

ANNALES

DE

L'INSTITUT PASTEUR

MODE DE PÉNÉTRATION DES BACILLES DE STEFANSKY AU TRAVERS DE LA PEAU FRAICHEMENT ÉPILÉE

par E. MARCHOUX et V. CHORINE.

L'un de nous, avec Sorel en 1911 (1), a montré que le bacille de Stefansky déposé sur la peau saine d'un rat, même sur la peau fine et rose d'un rat qui vient de naître, ne cause aucune infection; mais il suffit d'arracher quelques poils et de beurrer le tégument fraîchement épilé avec du liquide septique pour que 100 p. 100 des animaux s'infectent. L'expérience, répétée maintes fois depuis dans le laboratoire, a toujours donné des résultats identiques. Nous avons cherché longuement à saisir le mécanisme de la pénétration des germes dans l'organisme après épilation. Sur des milliers de coupes nous n'avons distingué aucune porte d'entrée; cependant un de nos collaborateurs, M. Thibault, avait trouvé dans un prélèvement fait quarante-huit heures après le début de l'expérience, une cellule du derme qui renfermait de nombreux bacilles, dont il avait été impossible de trouver la voie de pénétration.

Nous avons décidé de reprendre cette étude pour essayer de déceler le processus de l'infection. Les coupes perpendiculaires à la surface de la peau, après examen d'une multitude d'entre elles, ne nous ont pas renseignés. Nous avons alors

(1) MARCHOUX (E.) et SOREL (F.). *Ces Annales*, 26, 1912, p. 675.

décidé de pratiquer la coupe parallèlement à la surface et nous nous sommes aperçus avec étonnement que ces poils que nous croyions enlever avec le bulbe se cassaient presque tous au ras de la peau. D'ailleurs, en examinant une touffe de poils que l'on vient d'arracher, on peut rarement en trouver un seul qui porte le bulbe. Les poils cassés à fleur de peau, ou même à l'intérieur du canal, ne diminuent en

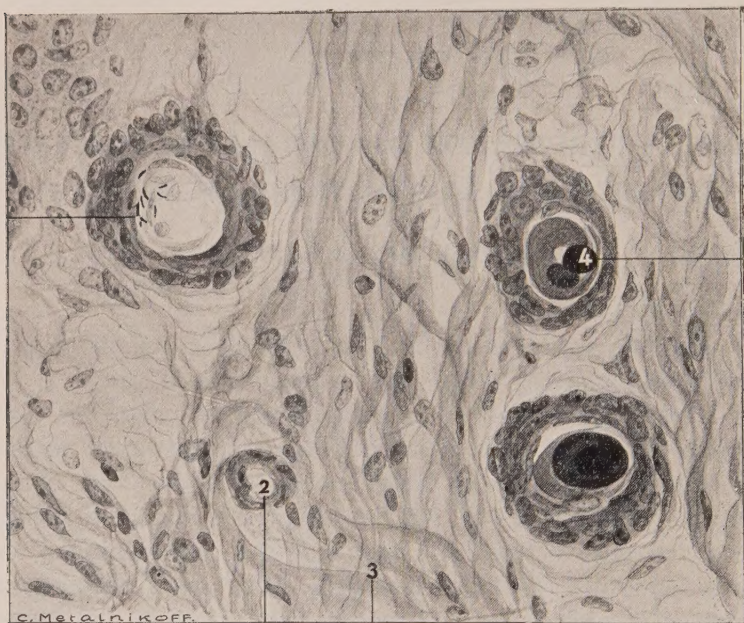


FIG.1. — A gauche : 1, une gaine épithéliale vide de poil avec quelques bacilles de Stefansky dans la lumière du canal. A droite, deux poils non arrachés; 2, petite artériole; 3, tissu conjonctif; 4, poil bifide.

rien l'étanchéité du revêtement épidermique. Seul l'arrachement du bulbe, intéressant la continuité de la couche protectrice, provoque la formation d'une petite plaie qui, pour passer inaperçue, n'en représente pas moins une porte d'entrée. C'est par cette voie que le bacille de Stefansky, et peut-être d'autres germes, pénètrent dans l'intimité des tissus.

La technique opératoire pour ces examens est la suivante : on épile quelques rats, sur une surface de 1 ou 2 centimètres

carrés, choisie au niveau de la partie antérieure du dos pour la mettre à l'abri des dents ou des pattes de l'animal. On enduit cette surface de matériel septique. Pour faciliter l'examen par un apport de germes plus grand, on applique sur la peau épilée un tampon de coton hydrophile imbibé d'une émulsion épaisse de bacilles de Stefansky. On maintient en place pendant vingt-quatre heures ce tampon à l'aide d'une petite compresse de gaze collée tout autour avec du collodion sur la peau saine de l'animal.

On sacrifie un rat six heures, un autre vingt-quatre heures,

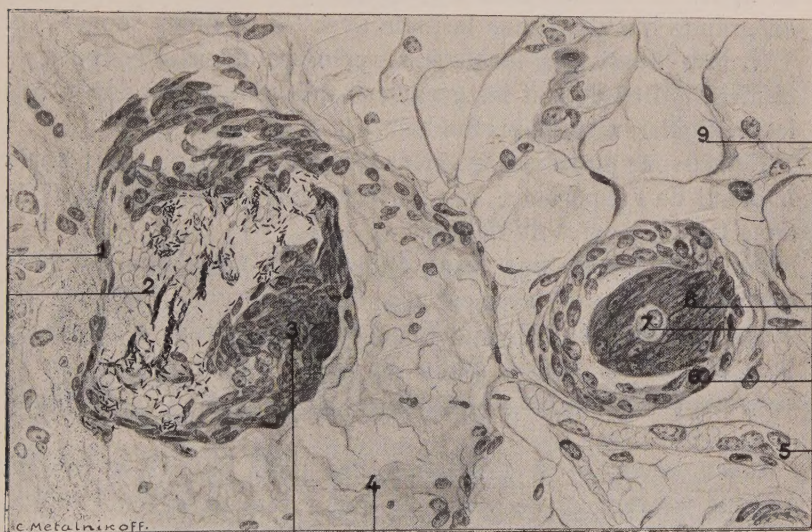


Fig. 2. — A gauche, reste de bulbe d'un poil arraché, nombreux globules rouges et bacilles de Stefansky dans la plaie. A droite, canal pileux avec un poil. 1, gaine épithéliale externe très distendue par hémorragie; 2, globules rouges et nombreux bacilles de Stefansky; 3, cellules du bulbe, restant après l'arrachement du poil; 4, chorion; 5, capillaire; 6, gaine épithéliale du poil; 7, substance corticale; 8, cellules graisseuses.

un troisième quarante-huit heures après le début de l'expérience et ainsi de suite. On prélève le morceau central de la peau épilée, on le fixe au mélange de Dubosq-Brasil et on l'inclut à la paraffine suivant la méthode habituelle.

On constate que les canaux pileux sont pratiquement tous remplis par le poil et nous n'avons jamais trouvé de bacilles

entre la gaine épithéliale externe et le poil. Il est vrai que chez le rat cet espace est le plus souvent inexistant. En revanche, dans les gaines vides nous rencontrons sans peine des bacilles acido-résistants (voir fig. 4), quelquefois en grand nombre. Les coupes des couches plus profondes, sauf les cas exceptionnels que nous signalons, révèlent l'intégrité des bulbes pileux. Il nous est arrivé de retrouver et de suivre sur plusieurs coupes en série l'emplacement d'un bulbe franchement arraché et d'y découvrir une plaie microscopique, souvent avec une petite hémorragie, comme on peut le voir sur la figure 2. Les bacilles de Stefansky se trouvent mélangés en grande quantité dans la plaie avec les globules rouges. On y trouve aussi des leucocytes, principalement des polynucléaires qui englobent les germes et qui vont, en se déplaçant, les véhiculer vers la profondeur.

Nous avons pu retrouver chez un rat sacrifié trois jours après le début de l'expérience, des germes acido-résistants déjà fixés dans les histiocytes du derme.

Si, chez le rat, une large épilation n'ouvre que de rares portes d'entrée, il n'en est pas de même chez l'homme où les poils n'étant sujets qu'à des mues plus espacées, s'arrachent plus facilement avec le bulbe et où le danger d'infection se trouve singulièrement multiplié quand l'épilation est étendue.

CONCLUSIONS. — A l'épilation, les poils du rat se cassent le plus souvent et ne viennent que rarement avec le bulbe. C'est seulement dans ce dernier cas qu'il se produit une petite plaie suffisant à permettre l'entrée des bacilles. Ceux-ci ne pénètrent que dans les canaux vides de poils, se mélangent au sang qui s'écoule de la lésion et sont emportés par les phagocytes dans l'intimité de l'organisme.

L'ALLERGIE SALIVAIRE HÉMORRAGIQUE

par G. SANARELLI.

(*Institut de microbiologie de l'Université de Rome.*)

I. — MISE AU POINT CHRONOLOGIQUE SUR LE PHÉNOMÈNE DE L'ALLERGIE HÉMORRAGIQUE.

Le phénomène de l'allergie hémorragique, signalé par nous dès 1916 (1), a été décrit dans tous ses détails expérimentaux — qui n'ont pas varié depuis cette époque — dans notre dernier mémoire concernant la pathogénie du processus cholérique.

Ce mémoire a été publié en 1924 (2).

Nous avons réalisé ce phénomène lors de quelques tentatives expérimentales faites dans le dessein de produire, chez les animaux, des états algides et, surtout, la phase autrefois si mystérieuse, dite algide ou asphyxique, que l'on observe habituellement dans le choléra humain, mais qui peut quelquefois aussi survenir comme une complication très grave dans certaines entérites et certaines appendicites (3).

Nous étions, auparavant, dans l'incompréhension la plus complète sur le mécanisme pathogénique de ces graves syndromes morbides.

A la suite de nombreux essais, nous avons enfin réussi à reproduire par choc, principalement chez les lapins, cette brusque et frappante symptomatologie au cours de laquelle apparaissent des troubles humoraux et circulatoires entraînant des lésions hémorragiques, dégénératives, nécrotiques, etc., atteignant tous les viscères et que, par analogie, nous

(1) *C. R. Acad. des Sciences*, 6 novembre 1916 et *La Presse Médicale*, 16 novembre 1916.

(2) *Ces Annales*, 1924, p. 237.

(3) *Bull. Acad. Méd. Paris*, 23 octobre 1923.

avons considérée comme entrant dans le cadre symptomatologique et anatomique de l'algidité.

Nous donnâmes alors à ce phénomène le nom d'*épithalaxie*, ce qui signifie *chute des épithéliums*. En effet, la note constante et vraiment caractéristique, non seulement de ce phénomène expérimental, mais aussi de la crise algide du choléra, consiste précisément dans la chute soudaine et massive de tous les épithéliums de revêtement des muqueuses, surtout dans le tube digestif et dans les voies urinaires et biliaires.

C'est pourquoi les auteurs qui, les premiers, ont reproduit nos expériences et étudié le nouveau phénomène que nous avons décrit (4), ont proposé, en raison même de son originalité, de le désigner sous le nom de « phénomène de Sanarelli ».

Ce phénomène qui, selon l'opinion exprimée par A. Gratia et R. Linz (5), partagée par nous (6), semble plutôt s'apparenter à l'allergie qu'à l'anaphylaxie, peut être décrit en peu de mots.

Si l'on injecte dans la veine, ou bien encore dans un organe interne — par exemple dans la paroi de l'appendice — une dose non léthale de microbes (*injection préparante*), puis, environ vingt-quatre heures plus tard, au même animal, toujours par voie intraveineuse, une quantité encore plus petite d'un filtrat bactérien (*injection déchainante*) on déclenche, ou subitement ou dans un très court délai, un choc extrêmement grave et mortel, accompagné de convulsions et suivi de réactions hémorragiques, dégénératives, humorales, etc., intéressant tous les organes et tissus déjà sensibilisés, directement ou indirectement, par la première injection préparante.

(4) ZDRODOWSKI (P.) et BRENN. *Cent. f. Bakter. Orig.*, **94**, 1925, p. 155. ZDRODOWSKI (P.). Ces *Annales*, 1928, p. 1242. ZDRODOWSKI (P.), HALAPINE (K.) et WOSKRESSENSKI (B.). Ces *Annales*, 1931, p. 57.

(5) *C. R. Soc. de Biol.*, **111**, 1932, p. 1080.

(6) Les allergies hémorragiques dans la pathologie humaine et expérimentale. *Schw. mediz. Woch.*, 1935, n° 37, et *Première semaine Médicale Intern. en Suisse*, Montreux, 9-14 septembre 1935. B. Schwabe, Basel, 1936, p. 169.

Il est à remarquer que l'étude de ce phénomène a connu, au cours des années suivantes, nombre de développements expérimentaux et d'interprétations très différentes, surtout en rapport avec la pathogénie de certaines manifestations morbides observées en pathologie humaine : gastro-entéropathies, hépatopathies, ulcérations gastro-duodénales, colites ulcéreuses et hémorragiques, infarctus du grêle et infarctus inexpliqués, appendicites, purpuras, hémorragies des membranes oculaires, glaucomes hémorragiques, néphrites hémorragiques, pancréatites, etc.

Quelques années après les publications de Zdrodowski et Brenn qui, les premiers, avaient étudié et confirmé le phénomène signalé et décrit par nous, en faisant ressortir son importance pathogénique, principalement en ce qui concerne la pathologie digestive, G. Schwartzman, du laboratoire du « Mount-Sinai Hospital » de New-York, commença, à partir de l'année 1928 (7), à publier des notes sur le même phénomène, qu'il considérait comme « nouveau » et qu'il étudia seulement au point de vue de la réaction cutanée.

Le grand nombre de communications et de variantes expérimentales publiées successivement par G. Schwartzman, toujours sur les manifestations cutanées de notre phénomène, a créé parmi les chercheurs une certaine confusion autour de la vraie paternité scientifique de celui-ci.

De ce fait, un assez grand nombre d'auteurs ont tendance à attribuer, soit partiellement, soit entièrement à G. Schwartzman, la découverte d'un phénomène que nous avons signalé et nettement décrit douze années avant cet auteur.

L'équivoque, qui dure encore, a pu se produire, peut-être, pour ce motif que dans ses communications publiées depuis 1928, G. Schwartzman n'a jamais fait allusion à nos travaux sur le phénomène qu'il présentait comme s'il n'avait pas eu de précédents.

Est-il vraisemblable que, dans le laboratoire du Mount-Sinai Hospital de New-York, nos travaux aient pu rester ignorés alors qu'ils avaient été publiés depuis de nombreuses

(7) *Proc. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 25, 1928, p. 560.

années déjà, dans les comptes rendus académiques, des revues et périodiques scientifiques parmi les mieux accrédités et les plus répandus dans le monde médical ?

Les savants qui, en Europe, se sont intéressés à la nature de ce phénomène, ont démontré il y a longtemps, que les réactions cutanées décrites par G. Schwartzman, employant la même espèce animale, le lapin, et suivant les mêmes règles expérimentales que nous avons exposées et nettement précisées une douzaine d'années auparavant, sont identifiables au « phénomène de Sanarelli », auquel elles correspondent en tous points (8).

Par conséquent, c'est bien à Sanarelli que doit être attribuée l'exclusive paternité scientifique de la découverte d'un tel phénomène. Sinon nous devrions associer à une telle paternité les noms de tous les auteurs qui, après nous, ont réussi à reproduire et à étudier, en suivant nos directives,

(8) GRATIA (A.) et LINZ (R.) : « ...Il nous paraît qu'il y a entre les deux phénomènes (de Schwartzman et de Sanarelli) des relations étroites et probablement même identité » (*C. R. Soc. Biol.*, **106**, 1931, p. 1290). « Nous avons déjà identifié antérieurement le phénomène de Sanarelli au phénomène de Schwartzman » (*Ibid.*, **108**, 1931, p. 238). « Nous croyons donc pouvoir déduire de ces résultats que les phénomènes de Schwartzman et de Sanarelli sont essentiellement identiques, conclusions que nous verrons encore se confirmer dans la suite » (*Ces Annales*, **49**, 1932, p. 136). P. BORDET : « Le phénomène de Schwartzman n'est, d'ailleurs, qu'une variante du phénomène de Sanarelli » (*C. R. Soc. Biol.*, **106**, 1931, p. 1253 ; *ibid.*, **114**, 1933, p. 572). G. DEBONERA, N. TZORTZAKIS et E. FALCHETTI : « ...Ce phénomène (de Schwartzman) est très voisin de celui de Sanarelli, sinon le même » (*C. R. Soc. Biol.*, **109**, 1932, p. 24). J. SABRAZÈS : « Le phénomène de Sanarelli et le phénomène de Schwartzman... sont identiques » (*Gaz. hebdom. Sc. méd. de Bordeaux*, 1932, n° 36, p. 561). A. ALECHINSKY : « ...L'identité absolue des deux phénomènes est désormais reconnue par tous les auteurs » (*Ann. Igiene*, **45**, 1935, p. 673). M. GAYTA : « ...Le phénomène décrit par Schwartzman en 1928 est entièrement analogue à celui décrit par Sanarelli en 1916 » (*Giorn. di Batt. e Imm.*, 1936, p. 506). A. PATANIA : « Le phénomène de Schwartzman n'est qu'une variété du phénomène décrit par Sanarelli durant ses recherches sur la pathogénie du choléra » (*Riv. Sanit. Sicil.*, 1936, p. 459). S. MINZ : « Les récents travaux expérimentaux inspirés des recherches classiques de Sanarelli ont apporté un copieux ensemble de contributions à ce nouveau et vaste chapitre de l'allergie locale, qui est destiné à éclaircir d'une nouvelle lumière une grande quantité de manifestations pathologiques encore aujourd'hui assez obscures ou mal comprises » (*Ann. Igiene*, **46**, 1936, p. 547).

notre phénomène dans les divers organes et tissus de l'organisme.

Ces auteurs sont déjà si nombreux, à l'heure actuelle, qu'il serait très malaisé d'en dresser une liste complète !

Nous rappellerons seulement qu'à la même époque que Shwartzman, ou peu après, de nombreux autres auteurs ont reproduit et décrit, dans la peau des animaux, des réactions allergiques se rapportant au « phénomène de Sanarelli » : M. H. Franklin (9), H. Gross (10), E. Ecker et H. Welch (11), I. Freund et E. P. Hosmer (12), F. M. Burnet (13), A. Gratia et R. Linz (14), P. Bordet (15), R. Ibanez Gonzales (16), G. M. Sickles (17), T. Kielanowsky et A. Selzer (18), A. Aléchinsky (19), E. Carlinfanti (20), De Blasio (21), N. Jonkow, Weresnikow, S. A. Jonkin et W. W. Achimowitsch (22), F. Plaut (23), Gratia et Linz (24) l'ont aussi reproduit dans la peau des lapins inoculés avec le vaccin charbonneux, avec le virus-vaccin, avec le neuro-vaccin et avec le virus rabique. K. Apitz (25) a répété les expériences originales communiquées par Sanarelli à l'Académie des Sciences de Paris en 1916 et les a pleinement confirmées. D'autres auteurs : F. M. Burnet (26) déjà nommé, A. Cohn (27), E. Cope et K. Ho-

(9) *Proc. Soc. exper. Biol. and Medicine*, 1931, p. 319.

(10) *Cent. für Bakter. Orig.*, **122**, 1931, p. 96.

(11) *J. Experim. Medic.*, 1930, p. 409.

(12) *J. Imm.*, **29**, 1935, p. 279.

(13) *J. Path. and Bact.*, 1931, p. 45.

(14) *Ces Annales*, **49**, 1932, p. 131.

(15) *C. R. Soc. de Biol.*, **106**, 1931, p. 1251 ; **107**, p. 622 et 1465 ; **114**, 1933, p. 572 et 574.

(16) *Rev. San. e Hyg. Publica*, 1932, p. 345.

(17) *J. Imm.*, **20**, 1931, p. 169.

(18) *C. R. Soc. de Biol.*, **116**, 1934, p. 1140.

(19) *Ibid.*, **118**, 1935, p. 1496 et **119**, p. 1199 ; **121**, 1936, p. 166

(20) *Ann. Igiene*, 1935, p. 817.

(21) *Gior. di Batt. e Imm.*, 1937, p. 113.

(22) *Vestnik Mikrobiol. Epid. i Parazit.*, **15**, n° 3-4, 1936-1937.

(23) *Zeits. f. Imm.*, **87**, 1934,

(24) *Ces Annales*, **49**, 1932, p. 131.

(25) *J. Imm.*, **29**, n° 3, 1935, p. 255.

(26) *Loc. cit.*

(27) *Klin. Woch.*, 1934, p. 452.

well (28), E. M. Klein (29), Cohen (30), A. Saenz et L. Costil (31), C. F. Cerruti (32), E. Gentile (33), Hanger (34), M. Aitoff, M. Dion et H. Dobkevitch (35), A. Alechinsky (36), L. Michelazzi (37), P. Boquet (38), T. Morimoto (39), Watanabe et Misumi (40), H. Bock (41), H. M. Powell et W. A. Jaimeson (42), E. J. Cope et K. Howell (43), etc., ont obtenu le phénomène en employant comme antigènes préparants ou déchaînants des filtrats, des lysats, des nucléoprotéides, etc., obtenus à partir des souches microbiennes les plus variées, aérobies ou anaérobies : *B. coli*, *B. typhiques*, *Pasteurella*, *Brucella*, *Gonocoques*, *Méningocoques*, *B. bronchisepticus*, *B. pullorum*, *B. avisepticus*, *B. enteritidis* (Gärtner), *B. dysentériques* des nouveau-nés, vieilles cultures de staphylocoques, *Saccharomycètes*, *Pneumocoques* dissous dans la bile, etc.

D'autre part, S. M. Peck et H. Sobotha (44) ont obtenu les mêmes résultats à partir du venin de serpents ; M. Nasta (45) a employé la tuberculine ; Zdrodowski (46), le lait et l'alumine d'œuf ; P. Tinozzi (47), le catgut ; G. Fiorito (48), l'essence de térébenthine ; T. Giuffré (49) en bloquant le système

- (28) *J. Infect. Diseases*, **48**, 1931, p. 570.
- (29) *J. Experim. Med.*, **56**, 1932, p. 312.
- (30) *J. Infect. Diseases*, **52**, 1931, p. 155.
- (31) *C. R. Soc. de Biol.*, **111**, 1932, p. 573.
- (32) *Gior. Batt. e Imm.*, 1937, p. 55.
- (33) *Ibid.*, 1934, p. 1030 et 1045.
- (34) *Proc. Soc. Experim. Biol. and Med.*, **25**, 1928, p. 775.
- (35) *C. R. Soc. de Biol.*, **122**, 1936, p. 884.
- (36) *Ibid.*, **123**, 1936, p. 148.
- (37) *Pathologica*, 1935, p. 662.
- (38) *C. R. Soc. de Biol.*, **119**, 1935, p. 56.
- (39) *Nagasaki Igakkwai Zassi*, **13**, n° 5, 1935.
- (40) *J. Japan. Soc. of Vet. Sc.*, Mars 1935.
- (41) *Cent. f. Bakter.*, **125**, 1932, p. 435.
- (42) *J. Imm.*, **23**, 1932, p. 481.
- (43) *J. Infect. Diseases*, **48**, 1931, p. 570.
- (44) *J. Exp. Medic.*, 1931, p. 407.
- (45) *C. R. Soc. de Biol.*, **109**, 1932, p. 1307.
- (46) *Ces Annales*, 1928, p. 1242.
- (47) *Boll. Soc. di Scienze med. di Bologna*, 1937, p. 98.
- (48) *Gior. Batt. e Imm.*, **11**, 1933, p. 616.
- (49) *Pathologica*, **29**, 1937, p. 553.

réticulo-endothélial ; V. Vanni (50) en employant le liquide coelomatique d'ascarides, etc.

Selon M. Gayta (51), L. Semmola (52), M. Watanabe et K. Misumi, cités précédemment, il semblerait cependant que seraient peu aptes à reproduire le phénomène de l'allergie hémorragique, ou en seraient totalement incapables : les filtrats de cultures diphtériques et l'antitoxine diphtérique, ainsi que les filtrats de *B. putrificus*, *B. tetani*, *B. mallei*, *B. welchii*, *B. botulinus*, *B. abortus* Bang, *B. anthracis*, *Streptococcus equi*, *Staphylococcus aureus*, *B. subtilis*, etc.

Quant aux auteurs qui ont réussi à reproduire le phénomène dans des organes déterminés, ils sont maintenant si nombreux qu'il serait sans doute difficile de les nommer tous. A. Gratia et R. Linz (53) ont reproduit le phénomène dans les poumons, dans le péritoine, l'intestin et le rein ; A. R. Moritz et J. D. Morley (54) dans les articulations ; N. Cassuto (55), F. Amantea (56), G. Mossa (57), F. Fabiani et A. Gauthier (58), dans l'œil et les annexes oculaires ; H. T. Karsner, E. E. Ecker et E. L. Jackson (59) dans la muqueuse gastrique ; Ibanez Gonzales (60) dans le testicule ; R. Reitano et L. Loi (61) dans le pancréas ; G. Dessy (62) dans les reins ; O. B. Bier (63) dans l'oreille ; A. Alechinsky (64) dans une région capillaire de la peau ; P. Gritti (65) dans la muqueuse

(50) *Atti dell'Acc. Lencisiana di Roma*, n° 1, 1938 et *C. R. Soc. de Biol.*, **129**, 17 décembre 1938, p. 1052.

(51) *Gior. Batt. e Imm.*, 1936, p. 505.

(52) *Ibid.*, 1936, p. 517.

(53) *Loc. cit.*

(54) *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, 1931, p. 321.

(55) *Lo Sperimentale*, 1933, p. 191.

(56) *Ann. Igiene*, 1935, p. 538.

(57) *Boll. Ocul.*, **14**, 1935, p. 1031.

(58) *C. R. Soc. de Biol.*, **124**, 1937, p. 51.

(59) *Proc. Soc. Exper. Biol. and Med.*, **29**, 1931, p. 319.

(60) *Loc. cit.*

(61) *Boll. Soc. Ital. di Biolog. speriment.*, 1934, p. 126.

(62) *La Diagnosi*, 1936, p. 249.

(63) *C. R. Soc. de Biol.*, **112**, 1933, p. 407.

(64) *Ibid.*, **118**, 1935, p. 1496.

(65) *Valsalva*, **12**, n° 4, 1936.

nasale ; M. Fried (66) dans les poumons ; A. Patania (67) dans la rate ; K. Apitz (68) dans le foie, le cœur et la rate ; Gronchi (69) dans les surrénales ; A. Guarna (70) dans l'utérus, les ovaires et le vagin ; S. Latteri (71) dans l'appendice ; Loi et Carolia (72) dans le rein énérvé ; L. Michelazzi (73) sur les lapins tuberculisés et sur des cobayes en proie à une infection staphylococcique ; L. Barchi (74) sur des sujets tuberculeux, en employant le sérum de paludéens, etc.

Si l'on tient compte du grand nombre de savants qui, de 1923 à ce jour, se sont occupés, d'une manière ou d'une autre, du phénomène par nous signalé, étudié et décrit depuis l'année 1916, comment semble-t-il possible d'attacher à ce phénomène, ou à ses nombreuses variantes, des dénominations aussi diverses que les noms de tous ces auteurs, sans tomber aussitôt dans la confusion ?

II — COUP D'ŒIL SUR LA BIOLOGIE DE LA FLORE BACTÉRIENNE DE LA CAVITÉ ORALE.

Dans un récent article (75) nous avons publié des recherches concernant la prémunition aspécifique des entéropathies expérimentales de nature microbienne.

En poursuivant ces recherches nous avons eu, entre autres, l'opportunité de mettre en évidence une réaction biologique particulière qui, par maints aspects nous a semblé nouvelle, quoique pouvant être rapportée au phénomène de l'allergie hémorragique qui porte aujourd'hui notre nom. Nous avons voulu l'étudier un peu à fond.

Elle s'était révélée à nous par hasard.

(66) *Arch. of Path.*, décembre 1934, p. 1032.

(67) *Riv. Sanit. Sicil.*, 1936, p. 450.

(68) *Virchow's Archiv.*, **293**, 1934, p. 1.

(69) *Boll. Soc. Ital. di Biol. sperim.*, 1934, p. 1032.

(70) *Boll. Ist. Sierot. Milan.*, **14**, 1935, p. 360.

(71) *Boll. Soc. Ital. di Biol. sperim.*, 1934, p. 877.

(72) *Ibid.*, 1934, p. 775.

(73) *Boll. Ist. Sier. Milanese*, **14**, 1935, p. 105 et *Gior. di Batt. e Imm.*, **14**, 1935, p. 1212 et 1226.

(74) *Gior. di Clin. Medica*, **16**, 1935, p. 1318.

(75) *La Presse Médicale*, 1937, p. 1819.

Nous avons décidé d'essayer l'action prémunissante ou curative d'une anaentérotoxine aspécifique dans certaines entéropathies provoquées chez les lapins.

Dans le but d'obtenir chez ces animaux des entéropathies chroniques nous avons, tout d'abord, eu recours à des injections intraveineuses de microbes pathogènes choisis parmi les plus communs, notoirement entérotropes : *B. coli*, Bacille de la dysenterie, Vibrions cholériques et Bacilles paratyphiques.

Mais les injections intraveineuses ou sous-cutanées de ces bacilles, vivants ou morts, quoique pratiquées avec des précautions particulières et à petites doses, produisaient bien, chez les lapins, des entéropathies dues à une localisation entérique des bactéries injectées ou de leurs protéines ; mais, en même temps, elles se révélaient trop toxiques. A la longue, les animaux finissaient par succomber, non seulement par suite des troubles progressifs des fonctions du tube digestif, mais aussi par l'effet d'une lente intoxication de nature protéique.

Afin de mieux localiser le processus pathologique intestinal auquel nous voulions, avant tout, nous tenir, nous décidâmes de recourir à un nouveau procédé expérimental, qui nous était suggéré par une opinion que nous nous étions formée depuis longtemps concernant la nature et la pathogénie des entéropathies microbiennes, aussi bien aiguës que chroniques.

Nous avons été toujours d'avis que les entéropathies sont, pour la plupart, d'origine hématique et que leurs agents pathogènes ont, comme porte d'entrée et comme point de départ pour l'invasion circulatoire, la cavité buccale et ses formations lymphatiques (76).

Renonçant, dès lors, à l'emploi des microbes spécifiques entérotropes précédemment indiqués, parce que trop toxigènes et non appropriés à des animaux relativement peu résistants comme les lapins, nous décidâmes de recourir à l'action de la flore bactérienne normale de la cavité buccale.

(76) G. SANARELLI : *Les entéropathies microbiennes*. Ed. Masson, Paris, 1926, p. 172.

Nous pensons que ce sont précisément ces bactéries, commensales habituelles de notre cavité orale qui, de la bouche, pénètrent dans la circulation beaucoup plus fréquemment qu'on ne le pense, en engendrant des bactériémies et des entéropathies. Par voie sanguine elles vont électivement s'implanter dans les parois des différentes portions du tube digestif, en donnant naissance à des manifestations entéropathiques aiguës ou chroniques qui, selon les cas, peuvent ensuite assumer les caractères les plus divers : inflammatoire, hémorragique, purulent, ulcéreux, infiltrant, plastique, sténosant, etc., etc.

La flore microbienne de la cavité buccale et de la salive est suffisamment connue.

Ainsi que nous l'avions déjà signalé dans un récent article (77), la flore buccale est constituée par une grande variété de bactéries et de spirochètes, généralement non cultivables sur les milieux nutritifs ordinairement employés pour le développement des microbes aérobies.

La flore de la cavité orale est caractéristique et permanente.

Mais les cultures d'isolement sur ces milieux révèlent aussi dans la salive, la présence de quelques espèces microbiennes aérobies cultivables : des microcoques et, surtout, des variétés de streptocoques qui sont toujours en grand nombre ; les uns et les autres peu virulents pour les animaux de laboratoire.

De notre salive mixte que nous avons toujours employée pour ces expériences, nous avons parfois isolé aussi, par inoculation à des souris, le pneumocoque. Mais la mort de ces petits animaux survenait entre quatre et six jours, ce qui signifiait que notre pneumocoque salivaire était peu virulent. En fait, les injections de notre salive faites sous la peau de lapins, ne produisaient jamais la septicémie pneumococcique.

Mais si les cultures de notre salive pouvaient faire supposer une pauvreté relative en bactéries, son examen microscopique révélait, au contraire, la présence d'une infinité de

(77) G. SANARELLI : Les cacosmies buccales. *Presse Médicale*, 1^{er} octobre 1938, p. 1449.

microbes de toutes formes et de toutes dimensions, pour la plupart réunis en pelotons très épais et en amas denses.

Si l'on soumet à une observation périodique, durant plusieurs jours de suite, la salive récoltée en tubes stériles et maintenue à l'étuve ou à la température du laboratoire, on en retire cette impression que, *in vitro*, le développement de cette flore salivaire extrêmement variée est nul.

La réaction alcaline du milieu ne se modifie pas et tous les éléments figurés : leucocytes polynucléaires neutrophiles, cellules épithéliales et amas bactériens se déposent peu à peu au fond du tube, tandis que le liquide surnageant devient de plus en plus limpide. La salive, pour cette raison, se conserve dans les tubes même durant plusieurs mois, sans jamais se troubler, s'altérer ou dégager une odeur quelconque.

Cela confirme une fois de plus nos anciennes expériences (78) où nous avons démontré pour la première fois l'action bactéricide, atténuante et inhibitrice du liquide salivaire sur toutes les espèces bactériennes, y compris le bacille diphtérique, ce qui, à l'époque, parut à peine croyable.

Ces recherches ont été, cependant, successivement confirmées — quoique, pour la plupart, publiées comme entièrement nouvelles ! — par un grand nombre d'auteurs : H. Dold et F. Weigman (79), K. W. Clauberg (80), K. L. Pesch et R. Damm (81), M. T. Casassa (82), etc. Comme cela arrive souvent, ces savants ont totalement ignoré, dans leurs mémoires, les recherches effectuées et publiées par nous de nombreuses années auparavant !

Récemment, Piasecka-Zeyland et J. Zeyland (83) ont démontré l'existence d'un pouvoir inhibiteur de la salive, même sur le développement des bacilles tuberculeux.

A ces substances inhibitrices de la salive, quelques auteurs ont voulu donner le nom d'« inhibines ».

(78) *Cent. f. Bakt.*, **10**, 1892, p. 817.

(79) *Zeits. f. Hyg.*, **106**, 1934, p. 158.

(80) *Cent. f. Bakt.*, **134**, 1935, p. 96.

(81) *Zeits. f. Hyg.*, **118**, 1936, p. 1.

(82) *Gior. di Batt. e Imm.*, **18**, 1937, p. 381.

(83) *Tubercle*, **19**, 1937, p. 24.

Tout cela étant admis, comment peut-on expliquer la présence de cette énorme quantité de bactéries qu'on aperçoit dans la salive, lorsqu'on l'examine directement au microscope ?

Nous avons observé au microscope, pendant plusieurs jours de suite, les éléments cellulaires, surtout les grandes cellules épithéliales provenant de l'exfoliation de la muqueuse buccale qui, peu à peu, sédimentent et se réunissent au fond d'un tube rempli de salive, maintenu à la température ambiante. En colorant les préparations, au Giemsa ou au May-Grünwald, ou avec une autre couleur quelconque d'aniline assez diluée, on s'aperçoit que le protoplasme des cellules épithéliales est toujours chargé d'une grande quantité de bactéries.

Mais si l'on examine attentivement, on voit que ces bactéries ne se trouvent pas à l'intérieur du protoplasme cellulaire. Elles sont simplement fixées et disposées à sa surface. De nombreuses cellules apparaissent complètement recouvertes d'épaisses stratifications bactériennes, tout à fait uniformes, ce qui conduit à penser que la multiplication des bactéries s'est produite *in situ*, c'est-à-dire au-dessus du protoplasme cellulaire.

En répétant périodiquement ces examens, on observera également que, au fur et à mesure que le temps s'écoule, la surface des cellules épithéliales bactérisées s'enrichit progressivement en bactéries, jusqu'à en être totalement recouverte, tandis que le liquide salivaire qui surnage devient de plus en plus limpide et, microscopiquement, quasi amicrobien.

Il en faut retenir que la quantité démesurée de bactéries, de spirilles et de spirochètes qui pullulent dans la muqueuse buccale et qu'on ne réussit pas à cultiver sur les milieux ordinairement employés pour les aérobies, est constituée par des germes plus ou moins strictement anaérobies qui, à la manière des microbes cytotropes, vivent et se multiplient seulement au contact immédiat des cellules mortes et de leurs débris.

Ces derniers leur offrent le milieu nutritif, le *pabulum* nécessaire à la satisfaction de leurs exigences vitales particu-

lières de microbes anaérobies, comme le serait le milieu bien connu de Tarozzi, qui est précisément employé pour la culture des anaérobies.

Les microbes anaérobies de la bouche n'étant pas en mesure d'utiliser pour leurs propres besoins l'oxygène moléculaire, utilisent l'oxygène atomique déjà fixé sur des substances organiques mortes. Il est à noter que ces dernières, en présence de l'air, fixent continuellement de l'oxygène. Les exigences biologiques de ces microbes sont donc très analogues à celles des spirochètes, germes semi-anaérobies vivant dans l'intestin et dans la bouche, étudiés par nous il y a quelques années (84).

Ainsi s'explique comment se produit dans la cavité buccale — milieu largement aéré — cette multiplication prodigieuse et extrêmement rapide de bactéries qu'on a toujours occasion de constater chaque fois que — ce que nous avons pu faire souvent — les examens microscopiques de la salive sont pratiqués même très peu de temps après un nettoyage et un rinçage extrêmement soignés de la bouche et des dents.

Ces observations microscopiques sur le développement des bactéries anaérobies de la cavité orale réussissent moins bien si la salive a été conservée à l'étuve à 37°, parce qu'à cette température tous les éléments cellulaires s'altèrent rapidement, se transforment en détritits et ne permettent plus d'effectuer des préparations microscopiques démonstratives.

Quant aux microbes aérobies présents dans la salive gardée dans les tubes, ils deviennent de plus en plus rares à mesure que le temps s'écoule et, enfin, ils disparaissent par suite de l'action autoépuratrice due au pouvoir bactéricide du milieu salivaire.

Toute cette flore salivaire extrêmement variée et typique est cependant, du point de vue biologique, assez fragile.

Elle est détruite en une demi-heure à 60-70°.

Dans les tubes de bouillon que nous employons toujours pour les contrôles de la stérilisation, il nous arrive parfois d'observer le développement de quelque souche de *B. mesente-*

(84) Ces *Annales*, 41, 1927, p. 1 et 679.

ricus qui se révèle vite par l'apparition du voile superficiel caractéristique. Mais il s'agit là de constatations tout à fait exceptionnelles qui surviennent généralement après l'usage alimentaire de pommes de terre.

Pour recueillir la quantité de salive nécessaire à nos expériences, nous avons toujours procédé de la manière suivante :

Le soir, avant de nous coucher, nous procédions à un nettoyage soigné de la bouche au moyen d'une brosse à dents et en nous rinçant ensuite à plusieurs reprises avec de l'eau bouillie. Le lendemain matin, jusque vers midi, la salive était recueillie dans un crachoir de verre approprié, transportable et stérilisé. Avec un peu de patience, on réussit facilement à recueillir dans le cours de la matinée, environ 50-60 cent. cubes de salive mixte intégrale, à réaction légèrement alcaline. Si l'on veut, on peut recueillir une autre quantité de salive dans le cours de l'après-midi. La salive ainsi obtenue est versée dans des matras ou dans des tubes que l'on conserve à la glacière.

Maintenue au repos, notre salive, comme du reste toute salive mixte, intégrale, se sépare en une couche supérieure limpide ou à peine opalescente et en une couche inférieure trouble, d'un blanc jaunâtre, formée par un dépôt de mucosités floconneuses, de cellules épithéliales de la bouche et de corpuscules dits salivaires, lesquels ne sont que des leucocytes et, plus précisément, des granulocytes.

La composition de notre salive mixte apparaît à un examen sommaire, tout à fait semblable à celle d'une salive quelconque, provenant d'un sujet normal, à denture saine. Son poids spécifique est, en fait, normal, c'est-à-dire d'environ 1.000. Sa teneur en matières organiques est de 3,84 p. 100, c'est-à-dire peu inférieure aux 4 p. 100 indiqués dans les traités de physiologie (85). La quantité de matière organique de notre salive décantée après sédimentation spontanée de tous ses éléments morphologiques, s'établit à 2,4 p. 100.

(85) ROGER (H.) et BINET (L.). *Traité de Physiologie normale et pathologique*, 2, 1931, p. 102.

III. — EFFETS DES INJECTIONS INTRAVEINEUSES DE SALIVE NATURELLE ET DE SALIVE STÉRILISÉE.

Après ces recherches préliminaires sur notre salive, nous avons procédé à l'expérimentation concernant son action sur les animaux.

Ainsi que nous l'avons déjà dit, nos expériences avaient, tout d'abord, pour seul but de provoquer chez les lapins, au moyen d'injections salivaires intraveineuses, des entéropathies susceptibles de devenir chroniques.

Il est bien entendu que pour obtenir un tel résultat, on ne peut pas employer la salive naturelle.

Chez nos lapins, d'un poids moyen de 1.600-1.900 grammes, les injections intraveineuses, à dose convenable, de notre salive fraîche et non stérilisée, produisent habituellement une septicémie streptococcique. Les injections faibles, de quelques centimètres cubes, sont presque sans effet. Chez les lapins de plus forte taille, les injections de salive, jusqu'à 5 cent. cubes ne produisent, le plus souvent, que des diminutions transitoires du poids. Les animaux finissent, pour la plupart, par surmonter l'infection.

Mais si la même dose de 5 cent. cubes est injectée dans les veines de lapins de poids moindre (de 1.300 à 1.400 grammes), ceux-ci meurent de septicémie streptococcique, souvent en moins de vingt-quatre heures. Une issue analogue survient lorsque les lapins de plus grande taille reçoivent des doses s'élevant jusqu'à 10 cent. cubes ou si, chez ces mêmes gros lapins, la dose de 5 cent. cubes est injectée dans les veines pendant deux jours consécutifs. Dans ces cas aussi les lapins meurent de septicémie, dans un délai de douze à quinze jours. Si l'injection de 5 cent. cubes de salive est répétée durant quatre jours consécutifs, les lapins meurent au bout de huit à neuf jours. Dans tous ces cas la culture du sang et des divers organes montra que la mort des animaux était due à une septicémie streptococcique.

Ces expériences avaient démontré, entre autres, que les streptocoques de la salive normale isolés en culture pure

étaient peu pathogènes pour les animaux, même injectés à fortes doses. Toutefois, lorsqu'ils étaient injectés dans les veines en même temps que la salive, ils manifestaient une activité pathogène plus accentuée, provoquant aussi de la néphrite. Dans ce cas, l'urine est plus ou moins albumineuse.

Ayant dû renoncer, pour ce motif, à l'emploi de la salive naturelle, nous avons fait usage de la salive stérilisée par chauffage durant une heure à la température de 60°, au bain-marie.

C'est pourquoi, toutes les fois que dorénavant nous aurons l'occasion de faire allusion aux injections de salive ou de parler de salive inactivée, il devra être entendu qu'il s'agit toujours de salive rendue stérile de la manière qui vient d'être décrite.

Nous avons voulu, avant tout, expérimenter les injections intraveineuses de liquide salivaire décanté, c'est-à-dire du liquide transparent, optiquement quasi amicrobien, qui peut être aspiré des tubes laissés au repos durant quelques jours. Au fond de ces tubes, il se forme un dépôt qui est formé de bactéries et d'éléments ou de détritits cellulaires.

Les injections de salive d'abord stérilisée, puis décantée, sont très bien tolérées par les animaux.

Dans les veines auriculaires d'un lapin de 1.700 grammes (n° 11), nous avons réussi, du 13 au 25 février, à injecter chaque jour 10 cent. cubes de liquide salivaire décanté stérile. Dans l'espace de treize jours, nous avons donc injecté au total 130 cent. cubes.

Or, au 25 février, le lapin ainsi traité pesait encore 1.700 grammes, c'est-à-dire qu'il avait le même poids qu'au premier jour de l'expérience ! Il pouvait donc servir, ainsi que nous le verrons plus loin, pour d'autres usages.

Ces recherches préliminaires ont donc montré que la salive mixte, inactivée à 60° et privée par décantation spontanée de tous ses éléments morphologiques, et par suite de ses bactéries, demeure inoffensive même lorsqu'elle est introduite dans les veines en quantité élevée et durant un grand nombre de jours consécutifs.

D'une manière bien différente agissent les injections intra-

veineuses de salive stérilisée et non décantée, préalablement agitée dans les tubes de manière à émulsionner d'une façon homogène tout le sédiment.

Les injections isolées de 5 et de 10 cent. cubes de cette salive ne produisent, chez les lapins, que des variations pondérales transitoires, de courte durée. En fait, huit à dix jours après ces injections, les animaux ont ordinairement déjà recouvré leur poids.

Même si les injections de 5 cent. cubes de salive sont répétées durant cinq à six jours de suite, surtout lorsqu'on emploie des lapins d'une certaine taille, on n'observe que des variations pondérales faibles et transitoires. Les animaux finissent, en quelque sorte, par tolérer ces injections. Après quelques jours de repos, il n'y a plus qu'à recommencer ! Il est probable que l'organisme a la possibilité d'éliminer, peu à peu, par ses émonctoires naturels, et principalement par l'intestin, les bactéries salivaires et les détritits cellulaires, pourvu que ces éléments étrangers soient introduits dans la circulation, même pendant un temps assez prolongé, à doses petites et fractionnées.

Toutefois, si l'on élève un peu ces doses et si, chez des lapins du poids moyen de 1.700 à 1.750 grammes, on introduit dans les veines, par exemple : le premier jour 10 cent. cubes et le jour suivant, 5 à 10 cent. cubes de salive, on observe une rapide diminution du poids du corps, diminution qui va en s'accroissant progressivement dans les jours suivants et qui finit par entraîner la mort par marasme.

Si la seconde injection salivaire a été seulement de 5 cent. cubes, la mort ne survient qu'en trente, quarante et même cinquante jours. Lorsque la seconde injection est de 10 cent. cubes, la mort se produit dans un délai plus court, environ vingt jours. Cependant, si les lapins sont de forte taille, par exemple de 1.900 à 2.000 grammes, ils peuvent aussi survivre. Le poids des animaux employés influe beaucoup sur le résultat de ces expériences.

Les altérations que l'on peut relever à l'autopsie, surtout dans les cas de plus longue survie, sont toujours celles d'une cachexie gastro-intestinale avancée. Le péritoine contient habituellement une abon-

dante sérosité. Les anses intestinales, surtout dans le segment duodénal, apparaissent diarrhéiques, avec parois amincies, quasi transparentes et atrophiées, avec un calibre fortement réduit. Le cæcum est réduit de volume, de même que l'estomac. La muqueuse de l'estomac est assez rouge et recouverte d'une épaisse couche de mucosité catarrhale. Son contenu semi-fluide reste cependant très acide. La rate est toujours atrophiée. Le foie, les reins et les poumons conservent leur aspect normal. La vessie renferme toujours une grande quantité d'urine alcaline, souvent albumineuse. Les cultures du sang et de tous les organes restent constamment stériles.

De cette manière nous avons, finalement, réussi à produire chez nos lapins des gastro-entéropathies salivaires chroniques de nature probablement protéique.

Nous verrons ultérieurement comment nous avons utilisé ce procédé expérimental pour essayer dans les entéropathies chroniques expérimentales l'action prémunissante et même curative d'une anaentérotaxine aspécifique, à laquelle nous avons fait allusion dans une précédente étude, mentionnée plus haut (86).

IV. — L'ALLERGIE SALIVAIRE HÉMORRAGIQUE.

Arrivons enfin à la description de la nouvelle réaction allergique de nature salivaire que, au cours de ces expériences, il nous a été donné de reproduire chez les lapins.

Durant nos nombreuses tentatives qui, comme nous l'avons déjà dit, avaient surtout pour but d'essayer et de préciser l'action de la salive injectée par diverses voies à des animaux, nous avons constaté que les injections de salive inactivée, bien que faites à doses élevées — par exemple 40 cent. cubes — et répétées pendant de nombreux jours consécutifs, étaient bien tolérées. Mais à la condition qu'elles fussent pratiquées dans la cavité péritonéale ou sous la peau.

La raison d'une aussi grande tolérance, spécialement de la part du péritoine, est facile à trouver.

Si l'on fait l'autopsie d'un lapin ayant reçu pendant de nombreux jours, des injections de salive dans le péritoine, on observe que tous les éléments morphologiques du matériel

(86) *Presse Médic.*, 1937, p. 1821.

injecté : cellules, détritux et bactéries se présentent en amas sous forme de lambeaux et de petits blocs de couleur jaunâtre, disséminés çà et là et adhérant aux anses intestinales, aux plis de l'épiploon et aux parois mêmes de l'abdomen.

L'examen microscopique de ces petits blocs d'aspect fibrino-purulent, révèle qu'ils sont constitués par des amas cellulaires et bactériens provenant de la salive injectée.

Ce fait correspond point pour point aux réactions de défense bien connues qui se produisent dans le péritoine, lorsqu'on introduit des bactéries et des éléments étrangers dans la cavité abdominale (87). En conclusion, les bactéries salivaires mortes, injectées dans le péritoine, ne sont pas absorbées tout de suite mais sont pour la plupart séquestrées et bloquées en attendant d'être, peu à peu, éliminées par l'intervention des macrophages.

Par contre, si les injections de salive sont pratiquées dans les veines et répétées à peu près à la même heure, *durant trois jours consécutifs*, à la dose de 10 cent. cubes, elles déclenchent brusquement, très peu de temps après la dernière injection, un *choc* violent se manifestant sous forme de crise convulsive, de cris, de polypnée, d'élimination urinaire, etc., et qui se termine invariablement par la mort.

L'autopsie de ces animaux fournit des données caractéristiques. Dans le plus grand nombre de cas, on constate, à l'ouverture de la cavité péritonéale, la présence d'une abondante sérosité généralement hémattique, s'élevant souvent à plus de 10 cent. cubes. Souvent aussi, on y rencontre du sang fluide dans lequel on peut récolter de gros coagulums sanguins. Il s'agit là de véritables cas d'hémorragies péritonéales. D'un lapin mort aussitôt après la troisième injection, nous avons pu extraire de la cavité abdominale environ 45 cent. cubes de sang liquide et un coagulum pesant 17 grammes !

Il est difficile de relever avec précision quelle peut être, dans ces cas, l'origine exacte des petites comme des fortes hémorragies péritonéales. Mais on peut bien supposer que le sang provient généralement de veines dilatées, ou même déchirées, de l'épiploon.

De fait, dans ces cas où, à l'autopsie, on rencontre seule-

(87) G. SANARELLI. *Ces Annales*, 1919, p. 837.

ment de la sérosité plus ou moins hématique, on observe que tout le système veineux abdominal est énormément dilaté et congestionné. Mais l'organe qui semble, de beaucoup, le plus congestionné, est presque toujours l'épiploon dont les veines ont, comme cela est bien connu, des parois d'une extrême finesse et d'une grande fragilité.

Lorsqu'on se trouve en présence d'une péritonite hémorragique, tous les organes apparaissent anémiques et quasi exsangues.

Les ruptures des parois vasculaires sont causées et favorisées par cette dilatation exagérée que provoque l'afflux sanguin, ainsi que par les processus dégénératifs et nécrotiques subitement déclenchés par les soudaines altérations humorales et tissulaires qui sont l'effet du *choc* allergique provoqué par la dernière injection intraveineuse déchaînante.

C'est pourquoi les auteurs qui ont étudié les lésions histopathologiques qu'on observe sur les organes des lapins chez lesquels on a provoqué le « phénomène de Sanarelli » : H. T. Karsner et A. N. Moritz (88), T. Kielanowski et A. Selzer (89), etc., affirment que, dans ces cas, les injections déchainantes produisent de graves lésions vasculaires et hémorragiques, ruptures de vaisseaux, etc., à cause de l'excessive congestion sanguine, provoquée par une sorte de biotropisme spécifique. Cela est si exact que lors d'expériences effectuées sur la peau, les phénomènes congestifs peuvent être arrêtés par l'application locale d'agents anémifiants.

Ces hémorragies péritonéales, qui représentent les résultats habituels des allergies salivaires et qu'on peut, en tout et pour tout, rapporter au « phénomène de Sanarelli », s'accompagnent d'autres lésions de même nature qu'on peut relever dans d'autres organes.

De telles lésions — bien entendu lorsque l'hémorragie péritonéale n'a pas causé l'évacuation du sang de tous les viscères — sont généralement les suivantes : toutes les anses intestinales apparaissent énormément congestionnées et diarrhéiques ; elles présentent la couleur hortensia, bien connue. L'appendice présente également la même

(88) *J. Exp. Medic.*, **60**, 1934, p. 37.

(89) *C. R. Soc. de Biol.*, **416**, 1934, p. 1140.

couleur et la même vascularisation intense. La portion duodénale apparaît toujours la plus congestionnée et la plus diarrhéique. Les veines gastriques sont, aussi, très congestionnées et dilatées. Le foie, également, est congestionné, mais la rate, au contraire, présente toujours un aspect normal. L'épiploon est presque toujours si congestionné qu'il ressemble à une grosse nodosité de vaisseaux sanguins variqueux. Le mésentère est pareillement vascularisé d'une manière extraordinaire. Les deux cornes de l'utérus sont fortement rougies et leur muqueuse présente une teinte lie de vin et, parfois, est franchement hémorragique. Les reins se présentent un peu congestionnés. La vessie est habituellement contractée et ne contient que quelques gouttes d'urine dont la réaction est alcaline et qui, le plus souvent, ne renferme pas d'albumine.

Des suffusions et infiltrations hémorragiques très caractéristiques et parfois importantes s'observent dans la région lombo-sacrée, le long des deux grands muscles psoas. Dans un cas, l'infiltration hémorragique des muscles psoas avait atteint de si vastes proportions que nous décidâmes de faire des préparations microscopiques. L'examen des coupes révéla une forte infiltration hémorragique sous-péritonéale s'étendant presque au long du muscle tout entier et s'insinuant à travers l'aponévrose lombo-iliaque et les fibres musculaires. L'hémorragie n'était pas libre, mais le sang s'était frayé un chemin à travers les mailles du tissu conjonctif sous-aponévrotique dont les fibres apparaissent fort dissociées. Dans les coupes montées et colorées, la notable épaisseur de l'infiltration hémorragique était très nettement visible, même à l'œil nu.

Mais, à part la gravité et l'importance de ces hémorragies, les lésions vraiment particulières à ces crises allergiques mortelles sont celles qu'on observe dans les poumons.

Ces organes apparaissent presque toujours plutôt anémiés que congestionnés, ce qui fait encore mieux ressortir la présence de taches lenticulaires hémorragiques qui sont plus ou moins abondamment disséminées dans ces organes. De telles pétéchie, qui sont tout à fait semblables à celles que nous avons décrites aussi dans les poumons des cobayes ayant succombé à l'infection spirochétienne (90), sont comparables à ces taches lenticulaires qu'on observe sur les ailes des papillons du genre « vanessa ». Dans notre mémoire « Sur la pathogénie des spirochétoses ictérogènes » présenté au III^e Congrès International de Pathologie comparée, nous avons

(90) G. SANARELLI. *Ces Annales*, 43, 1929, p. 109.

démontré que les pétéchies pulmonaires spirochéliennes sont aussi de nature allergique (91).

Dans certains cas, le nombre de ces pétéchies pulmonaires n'est pas très élevé, mais chez certains lapins, elles sont tellement abondantes que la surface des deux poumons en est intensément parsemée (voir fig. 1).

Nous n'avons jamais rien vu de semblable dans aucune autre infection expérimentale. Egalement, dans l'allergie hémorragique ou épithalaxie, provoquée chez les lapins qui suc-



FIG. 1. — Pétéchies lenticulaires dans les poumons d'un lapin mort à la suite d'une crise allergique salivaire hémorragique.

succombent par suite du « phénomène de Sanarelli » (92), on ne constate rien de semblable.

L'examen microscopique des coupes de poumons, fixées dans le formol et colorées avec l'hématoxyline-éosine, montre que les pétéchies correspondent à des hémorragies qui occupent des zones plus ou moins étendues de tissu pulmonaire.

(91) G. SANARELLI. *C. R. III^e Congrès Intern. Path. comparée*. Athènes, vol. 4, 1936, p. 197.

(92) G. SANARELLI. *Ces Annales*, 38, 1924, p. 11.

On aperçoit des groupes d'alvéoles inondés de sang. En certains points, les parois alvéolaires apparaissent comme déchirées, tandis que le sang se fraye un chemin en s'infiltrant dans de vastes secteurs du parenchyme pulmonaire, formant ainsi des lacs sanguins très étendus.

A titre d'exemple et pour mieux fixer la physionomie de ces résultats, nous donnons ci-dessous le résumé de quelques protocoles de laboratoire, choisis parmi les plus intéressants.

I. Lapin ♂, n° 52, de 1.620 grammes.

17 février 1938, 10 heures. Injection intraveineuse de 10 cent. cubes de salive inactivée.

18 février 1938, 10 heures. Même injection.

19 février 1938, 10 heures. Même injection.

Peu après cette dernière injection, l'animal est pris de convulsions, de polypnée et d'apnée. La mort survient bientôt. *Autopsie immédiate.* Grande quantité de sang fluide dans la cavité péritonéale (environ 45 cent. cubes). Tous les viscères apparaissent anémiés. Les intestins sont pâles et de couleur lardacée ; leurs parois sont tuméfiées et leur contenu fortement diarrhéique se montre constitué d'énormes quantités de leucocytes, de cellules épithéliales desquamées et de rares globules rouges. Le foie, les reins et les surrénales sont exsangues. L'épiploon est également exsangue, mais parsemé de petits coagulums sanguins adhérents. La rate et l'estomac sont, toutefois, d'apparence normale. Les veines mésentériques sont, au contraire, très congestionnées. Les anses intestinales sont en grande partie entourées d'un coagulum en réseau étendu que l'on peut extraire tout entier et d'un poids de 17 grammes. La vessie renferme peu d'urine, très alcaline, mais sans trace d'albumine.

A l'ouverture de la cavité thoracique, nous observons que les poumons sont tous deux très anémiés, mais parsemés de taches lenticulaires, typiques, hémorragiques. Les cultures du sang et des divers organes sont restées négatives.

II. Lapin ♀ n° 70, de 1.930 grammes.

11 mai 1938, 11 heures. Injection intraveineuse de 10 cent. cubes de salive inactivée.

12 mai 1938, 11 heures. Même injection.

13 mai 1938, 11 heures. Même injection.

Tout de suite après la dernière injection, l'animal commence à présenter des malaises. Soudainement, il est pris de convulsions, de dyspnée et meurt en trois minutes. *Autopsie immédiate.* Copieuse sérosité hématique dans le péritoine. Intestins nettement diarrhéiques, congestionnés, de couleur hortensia et, en quelques points, de couleur lie de vin. Appendice et plaque lymphatique iléo-cæcale très congestionnés. Un long coagulum sanguin qui part du lobe postérieur du foie, s'étend et se perd dans les replis des anses intestinales. Le foie, la rate et les reins, ainsi que les surrénales, semblent normaux. Le corps de

l'utérus est dilaté et rempli d'un liquide citrin qui, au microscope, apparaît très riche en cellules épithéliales et en leucocytes ; les cornes de l'utérus sont très congestionnées et, en quelques points, hémorragiques et de couleur lie de vin. De part et d'autre de la ligne lombosacrée, au long des grands muscles psoas, nous observons des infiltrats hémorragiques sous-séreux étendus. La vessie est contractée ; on y aspire à la pipette 1 cent. cube d'urine alcaline, non albumineuse. A l'ouverture de la cage thoracique, on observe que la surface des poumons est parsemée d'une très grande quantité de pétéchie lenticulaires. Cultures négatives du sang et des divers organes.

III. Lapin ♀, n° 53, de 1.650 grammes.

20 février 1938, 10 heures. Injection intraveineuse de 10 cent. cubes de salive inactivée.

21 février 1938, 10 heures. Même injection.

22 février 1938, 10 heures. Même injection.

Tout de suite après la troisième injection, l'animal se débat, devient paraplégique, présente de la dyspnée et meurt. *Autopsie immédiate.* De la cavité péritonéale, on extrait environ 10 cent. cubes de sérosité de couleur rosée. Toutes les anses intestinales apparaissent diarrhéiques, énormément injectées de sang, de couleur hortensia. Egalement, les veines mésentériques et celles des parois stomacales apparaissent très dilatées. L'appendice présente la couleur hortensia et ses parois tuméfiées sont énormément congestionnées. La portion duodénale de l'intestin est, peut-être, celle qui a réagi avec la plus forte intensité : ses parois, de couleur hortensia, semblent aplaties et amincies ; le contenu est très diarrhéique. Le foie est quelque peu congestionné. Les reins et les surrénales semblent normaux. L'utérus présente les deux cornes intensément congestionnées et hémorragiques ; leur muqueuse est couleur lie de vin. De la vessie, fortement contractée, on extrait 3 cent. cubes d'urine alcaline, non albumineuse.

A l'ouverture de la cage thoracique, les poumons apparaissent quasi exsangues, mais parsemés de pétéchie lenticulaires, du type « vanessa ». Cultures du sang et des divers organes, négatives.

IV. Lapin ♂, n° 82, de 1.600 grammes.

22 juin 1938, 11 heures. Injection intraveineuse de 10 cent. cubes de salive inactivée.

23 juin 1938, 11 heures. Même injection.

A peine terminée cette seconde injection, l'animal est pris d'accès convulsifs, de dyspnée et présente un état à peu près asphyxique. La tête est renversée en arrière ; on compte environ 188 respirations par minute ; les battements du cœur sont incomptables ; la température rectale est de 40° ; une grave prostration dure encore toute l'après-midi.

24 juin 1938, 11 heures. L'animal paraît complètement rétabli ; il présente seulement un torticollis typique. On pratique la troisième injection intraveineuse de 10 cent. cubes de salive. Pendant quelque temps, l'animal ne présente aucun symptôme anormal. Mais, environ deux heures plus tard, il est pris de convulsions et meurt subitement.

Autopsie immédiate. Cavité péritonéale avec sérosité hématique. Toutes les anses intestinales sont très diarrhéiques et congestionnées.

Les parois du gros intestin présentent de nombreuses taches hémorragiques. L'épiploon et le mésentère ont l'un et l'autre toutes leurs veines énormément dilatées. Le foie et les reins sont congestionnés, mais la rate est d'un aspect normal. Les cornes de l'utérus sont très congestionnées et, en certains points, la muqueuse apparaît parsemée de légères hémorragies. De la vessie, fortement contractée, nous extrayons 4 cent. cubes d'urine de réaction acide et riche en albumine (5 p. 1.000).

Dans la cavité thoracique on trouve un peu de sérosité hématique : les poumons apparaissent parsemés de grandes taches hémorragiques de l'aspect typique déjà décrit.

Cultures du sang et des divers organes, négatives.

Les résultats de ces expériences sont assez démonstratifs et caractéristiques pour nous dispenser d'explications (93).

V. — RÉACTIVITÉ CUTANÉE ET PRÉMUNITION ANTIALLERGIQUE.

De l'ensemble des données que nous venons d'exposer, il résulte donc, à l'évidence, que les réactions allergiques de nature nettement hémorragique, provoquées chez les lapins par les injections intraveineuses de salive stérilisée, sont à tous égards, assimilables au phénomène désigné par les auteurs sous notre nom.

L'antigène préparant et l'antigène déchaînant sont toujours, dans un cas comme dans l'autre, de la même nature. La seule différence entre les deux phénomènes consiste surtout en ce que, pour provoquer avec la salive l'attaque d'allergie hémorragique, les injections intraveineuses faites à vingt-quatre heures d'intervalle, doivent être au nombre de 3 au lieu de 2.

Le nombre des expériences et des diverses variantes effectuées au cours de ces recherches a été assez élevé et les résultats obtenus ont été généralement assez uniformes.

Nous nous bornerons à reproduire encore quelques observations qui, à notre avis, peuvent fournir des connaissances complémentaires.

A. RÉACTIVITÉ SALIVAIRE CUTANÉE. — Après avoir observé les imposantes réactions hémorragiques viscérales, nous avons

(93) Voir G. SANARELLI. *C. R. Soc. de Biol.*, **129**, 1938, p. 1049.

voulu voir s'il était possible de provoquer les mêmes réactions sur des organes ou des tissus déterminés, à commencer par la peau.

Les expériences suivantes faites en préparant les lapins par des injections intradermiques, le premier (n° 73) avec de la salive inactivée et le second (n° 78) avec de la salive naturelle, c'est-à-dire non chauffée, peuvent offrir une idée suffisamment nette concernant cette réactivité cutanée.

V. Lapin ♀, n° 73 de 1.400 grammes.

6 mars 1938, 11 heures. Injection intradermique sur le flanc gauche épilé, de 0 c. c. 2 de salive inactivée à 60°.

7 mars 1938, 11 heures. Injection intraveineuse de 10 cent. cubes de salive inactivée à 60°.

8 mars 1938, 11 heures. La zone cutanée, siège de l'injection, se présente avec une légère couleur rosée. On pratique une seconde injection intraveineuse de 10 cent. cubes de salive inactivée. Peu après le lapin est pris de convulsions et meurt.

Autopsie immédiate. La cavité péritonéale renferme une certaine quantité de lymphes non hématiques. Les anses intestinales sont très congestionnées. Le long des grands muscles psoas on observe de petites suffusions hémorragiques. Foie, rate et poumons normaux. Vessie avec 3 cent. cubes d'urine non albumineuse.

Si l'on examine la face interne de la peau, on observe dans la zone correspondant à l'injection intradermique, une intense et vaste infiltration hémorragique que l'on aperçoit moins bien lorsqu'on examine la peau à l'extérieur.

Dans la supposition que la présence d'une réaction cutanée aussi intense pourrait avoir précédé la seconde injection intraveineuse, nous avons fait une autre expérience en sacrifiant le lapin vingt-quatre heures après la première injection intraveineuse.

VI. Lapin ♀, n° 74 de 1.500 grammes.

10 mars 1938, 11 heures. Injection intradermique dans le flanc gauche épilé, de 0 c. c. 2 de salive inactivée.

11 mars 1938, 11 heures. Injection intraveineuse de 10 cent. cubes de salive inactivée.

12 mars 1938, 11 heures. La zone cutanée injectée présente seulement une légère tuméfaction. On sacrifie l'animal. L'examen de la face interne de la peau révèle une intense infiltration hémorragique diffuse sur une zone étendue, correspondant au point d'inoculation. Rien à noter dans les autres organes et tissus.

VII. Lapin ♀, n° 75 de 1.500 grammes (témoin).

10 mars 1938, 11 heures. Injection intradermique sur le flanc gauche épilé, de 0 c. c. 2 de salive inactivée.

11 mars 1938, 11 heures. La zone inoculée est d'aspect normal.

12 mars 1938, 11 heures. La même zone apparaît légèrement tuméfiée et de teinte à peine rosée. On sacrifie l'animal. A l'examen de la face interne de la peau on observe seulement une légère coloration rose, mais sans trace d'hémorragies.

Nous avons cru opportun de répéter une expérience analogue en employant, non plus la salive inactivée à 60°, mais la salive naturelle. Nous pensions que la très petite quantité de liquide salivaire injectée sous le derme n'aurait pas déterminé la septicémie streptococcique, rendant moins nette la réaction allergique provoquée. Et, de fait, dans ces cas, la septicémie ne s'est jamais produite.

VIII. Lapin ♀, n° 78 de 1.300 grammes.

15 mars 1938, 10 heures. Injection intradermique, sur le flanc gauche épilé, de 0 c. c. 2 de salive fraîche.

16 mars 1938, 10 heures. Dans la zone inoculée, la peau est rougie ; on observe dans la partie centrale un point jaunâtre qui semble indiquer un début de nécrose.

18 mars 1938, 10 heures. La zone cutanée inoculée est tuméfiée et quelque peu rougie ; la partie centrale semble prête à suppurer. Mais la zone périphérique est moins rouge. On pratique une injection intraveineuse de 10 cent. cubes de salive inactivée à 60°.

L'animal meurt le soir, c'est-à-dire trois jours et demi après la première injection intradermique et quelques heures après l'injection intraveineuse.

A l'autopsie, on note un peu de sérosité dans le péritoine. Examinée sur sa face interne, la peau présente une réaction hémorragique manifeste, quoique un peu moins intense que chez le lapin n° 73. Les anses intestinales, le foie, la rate, les reins et les surrénales sont d'aspect normal. La vessie renferme 10 cent. cubes d'urine très albumineuse. Les poumons sont un peu congestionnés, avec diverses petites pétéchies lenticulaires.

Cultures négatives du sang et des organes.

Nous devons donc conclure que la salive naturelle, c'est-à-dire non chauffée à 60°, peut servir d'antigène préparant, provoquant des réactions cutanées hémorragiques semblables à celles qu'on obtient au moyen des cultures mortes et des filtrats bactériens. Il semble qu'il n'y ait pas de différence notable si l'on emploie, pour les injections intradermiques préparantes, la salive inactivée ou la salive fraîche naturelle, c'est-à-dire non chauffée. Mais dans ce dernier cas, il faut

signaler la présence de la néphrite révélée par une grande quantité d'albumine dans l'urine. Et, puisque dans les autres expériences d'allergie salivaire effectuées en employant de la salive inactivée à 60° on ne constate pas de néphrite, on doit retenir que, dans le cas du lapin n° 78, il s'est exercé au détriment des reins, bien que l'examen bactériologique ait été négatif, une action préparante locale, c'est-à-dire rénale, due aux microbes vivants (streptocoques) inoculés dans le derme. Des expériences décrites au chapitre III, il résulte, en effet, que la néphrite se constate toujours chez les lapins qui meurent de septicémie streptococcique déclenchée par des injections intraveineuses de salive non chauffée.

A titre de complément aux présentes recherches nous ajouterons ces autres observations.

B. PRÉMUNITION SALIVAIRE ANTIALLERGIQUE. — Nous avons déjà dit au commencement du chapitre IV de ce mémoire que les lapins pouvaient tolérer durant de nombreux jours de suite les injections intraveineuses de salive inactivée, à condition que celles-ci soient pratiquées à dose relativement discrète (3 cent. cubes) et à certains intervalles.

Effectivement, après avoir reçu 4 ou 5 injections intraveineuses de salive inactivée, les lapins manifestent quelque diminution de poids. Mais il suffit de suspendre les injections pendant cinq ou six jours, pour que les animaux reviennent à leur poids initial. Alors, on peut aussi bien recommencer les injections intraveineuses que les péritonéales. Ces dernières peuvent être encore de 10 cent. cubes chacune et sont encore mieux tolérées. Après une telle préparation, les lapins résistent aussi au déchaînement de l'allergie salivaire.

Voici un exemple typique :

IX. Lapin n° 35 de 1.600 grammes.

A dater du 22 juin, nous pratiquons, à deux reprises, une dizaine d'injections intraveineuses de salive inactivée, de 5 cent. cubes chacune, et successivement, à divers intervalles, dix autres injections péritonéales de 10 cent. cubes chacune. Le 18 mars, c'est-à-dire au bout de cinquante-cinq jours, après avoir présenté diverses oscillations dans le poids du corps, et vingt-deux jours après la dernière injection péritonéale, le lapin avait définitivement récupéré son poids initial.

Alors, un lapin de même poids ayant été choisi comme témoin (lapin n° 35 *bis*), nous pratiquons sur l'un et l'autre, à une distance de vingt-quatre heures l'une de l'autre, les trois injections intraveineuses de 10 cent. cubes de salive inactivée dans le but de déchaîner l'attaque allergique mortelle.

Le lapin témoin n° 35 *bis* meurt aussitôt après la troisième injection, présentant à l'autopsie le tableau anatomo-pathologique déjà décrit.

Le lapin prémuni n° 35 ne présente, au contraire, aucun trouble. Il y a bien eu, durant quatre jours, une légère diminution de poids, mais au bout d'une semaine, il avait atteint le poids de 1.850 grammes.

Cependant, si les injections, même à doses faibles, sont pratiquées à intervalles trop rapprochés, les animaux finissent par mourir, ainsi que le démontre l'expérience suivante :

X. Lapin n° 10, de 2.000 grammes.

Du 29 janvier au 6 février, nous faisons huit injections intraveineuses de 5 cent. cubes chacune et, du 7 au 14 février, sept autres injections péritonéales de 10 cent. cubes chacune. Le 16 février, l'animal meurt. Son poids était tombé à 1.300 grammes. A l'autopsie, exception faite de l'habituelle constatation de petits lambeaux fibrino-purulents adhérents aux anses intestinales, on ne trouve de remarquable qu'une appendicite hémorragique. L'appendice apparaît, en effet, parsemé de petites pétéchiés et, sur son tiers inférieur, il est de couleur noirâtre à cause des infiltrations hémorragiques qui intéressent toute l'épaisseur de sa grosse paroi.

Il y a aussi des cas dans lesquels la prémunition ou préparation antiallergique s'est produite chez les lapins avec un petit nombre d'injections péritonéales et intraveineuses, comme le démontre l'expérience suivante :

XI. Lapin n° 18 de 1.750 grammes.

Aux dates des 20 et 24 février, nous pratiquons deux injections péritonéales de 10 cent. cubes chacune. Les 26 et 28 février suivants, nous faisons encore deux injections intraveineuses de 10 cent. cubes chacune.

L'animal présente durant quelque temps une certaine diminution de poids, mais quelques jours après, exactement le 10 mars suivant, il avait déjà récupéré son poids originel de 1.750 grammes. Alors, entre le 11 et le 13 mars, à des intervalles de vingt-quatre heures, nous pratiquons les trois injections de 10 cent. cubes de salive inactivée. Le lapin présente une nouvelle et transitoire diminution de poids. Le 1^{er} avril, c'est-à-dire dix-neuf jours plus tard, le poids de l'animal bien portant était déjà augmenté à 1.950 grammes. On décide de renouveler pour la seconde fois, dans les journées des 2, 3 et 4 avril, les trois injections intraveineuses préparantes et déchainantes de salive, de 10 cent. cubes

chacune, en soumettant au même traitement un lapin témoin n° 16 bis de poids égal.

Aussitôt après la troisième injection ce lapin témoin meurt comme de règle, en présentant les symptômes bien connus et les lésions habituelles. Le lapin n° 18, prémuni et préparé, a présenté une seconde oscillation pondérale, transitoire, mais il a survécu.

Nous avons, par contre, observé que les injections sous-cutanées de salive ne protégeaient pas les lapins. Nous avons également constaté que ces injections, à l'encontre des injections intraveineuses, ou péritonéales, avaient tendance à provoquer des néphrites.

Même, si l'on procède avec précaution et aussi si l'on commence les trois injections allergisantes, puis déchainantes, alors que le poids du corps des lapins traités est déjà redevenu égal au poids initial, les animaux succombent toujours.

Quelquefois, la mort survient dès la première injection et, à l'autopsie, on trouve toujours l'urine très albumineuse. Si les lapins succombent après la troisième injection, ils présentent le tableau anatomo-pathologique typique, déjà décrit, de l'allergie salivaire, compliquée cependant d'une très grave néphrite hémorragique.

Voici une expérience démonstrative :

XII. Lapin n° 38 de 1.650 grammes.

A partir du 26 février, il a reçu, dans l'espace de vingt et un jours, quatre injections sous-cutanées de salive inactivée : deux de 5 cent. cubes et deux de 10 cent. cubes, sans montrer aucune diminution de poids. De fait, alors que le 19 mars il était soumis à la triple injection intraveineuse, son poids était de 1.700 grammes, c'est-à-dire légèrement supérieur à celui du début.

Le lapin meurt subitement après la troisième injection, présentant outre les habituelles lésions caractéristiques, une néphrite hémorragique tellement intense, que la petite quantité d'urine extraite de la vessie très contractée, était sanguinolente et coagulait en bloc lorsqu'on la chauffait à la flamme.

Cela fait supposer que les précédentes injections salivaires sous-cutanées avaient été sans effet contre une crise allergique salivaire provoquée par voie intraveineuse. Il semble, bien au contraire, que dans de tels cas, l'organisme est rendu, non seulement plus sensible, mais que les injections sous-cutanées

pratiquées précédemment peuvent préparer et sensibiliser aussi les reins, de manière que le déclenchement du choc allergique produit en même temps une très grave néphrite hémorragique.

Enfin, aucune prémunition ou préparation antiallergique ne peut dériver des injections intraveineuses, même longtemps répétées, de salive décantée.

Nous avons rapporté plus haut, au chapitre III, le cas du lapin n° 11, de 1.700 grammes, qui, dans l'espace de treize jours, avait bien toléré dans les veines l'introduction d'un total de 130 cent. cubes de salive stérilisée et décantée. A la date du 7 mars, le poids de l'animal, apparemment bien portant, était monté à 1.850 grammes. Le même jour, on commence la série habituelle des trois injections intraveineuses de 10 cent. cubes de salive. Malgré la longue préparation précédente avec la salive décantée, l'animal meurt peu après la troisième injection, présentant à l'autopsie le tableau typique de l'allergie salivaire hémorragique.

Des expériences que nous venons de rapporter, nous pouvons donc tirer les conclusions suivantes :

Le phénomène de l'allergie salivaire hémorragique peut être provoqué, chez les lapins, même dans la peau, toutes les fois que celle-ci a été opportunément préparée au moyen d'une injection intradermique de salive.

Une préparation adéquate au moyen d'injections intraveineuses de salive inactivée, faites à des doses bien tolérées, prémunit les lapins contre le déclenchement de l'allergie salivaire hémorragique. Il est cependant nécessaire que les injections, même si elles ne sont pas nombreuses, soient pratiquées avec précaution, c'est-à-dire à des intervalles convenables. Les animaux ne résistent pas aux injections trop rapprochées et, dans ce cas, on peut trouver à l'autopsie une appendicite hémorragique typique, semblable à celles que nous avons reproduites expérimentalement par voie circulatoire et que nous avons décrites dans de précédents travaux (94).

(94) G. SANARELLI. *Ces Annales*, **38**, 1924, p. 46. — Les entéropathies microbiennes, Paris 1924, p. 153. *Rassegna clinico-scientifica*, **16**, 1938, p. 211.

Il n'est pas possible d'obtenir une prémunition ou une préparation quelconque contre l'attaque allergique salivaire en traitant, même pendant longtemps, les lapins avec des injections péritonéales de salive. A l'autopsie des lapins qui succombent par allergie salivaire hémorragique après avoir reçu et bien toléré auparavant plusieurs injections sous-cutanées de salive inactivée, on trouve parfois une grave néphrite hémorragique, ce qui signifie que, dans ces cas, les injections sous-cutanées antérieurement pratiquées ont sensibilisé et préparé aussi le parenchyme rénal.

De même, aucune prémunition antiallergique ne peut être obtenue par les injections, même répétées durant longtemps et à doses élevées, de salive inactivée et décantée, c'est-à-dire dépouillée de ses éléments morphologiques.

VI. — L'ALLERGIE SALIVAIRE HÉMORRAGIQUE N'A PAS UN CARACTÈRE DE SPÉCIFICITÉ

Nous avons l'impression, au cours de ces recherches, que la prémunition contre le phénomène allergique salivaire ne devait pas posséder le caractère d'une réelle spécificité.

Même en admettant que la partie active de la salive injectée relevât du contenu de la flore microbienne, nous nous sommes demandé si l'on pourrait réaliser une certaine prémunition contre l'attaque au moyen d'une opportune préparation faite avec des bactéries différentes des bactéries salivaires.

Nous avons, par hasard, dans notre laboratoire, quelques lapins ayant survécu à d'anciennes et légères infections provoquées, au début de décembre 1937, par voie sous-cutanée, avec des cultures pures mais peu actives, de bacilles dysentériques (Shiga). Au cours de l'infection dysentérique chronique ainsi provoquée, ces lapins avaient été soumis également, pendant une durée d'environ trois mois, à diverses injections sous-cutanées d'une anaentérotoxine préparée de la manière décrite dans notre article précédemment mentionné (95).

Après diverses oscillations, aux premiers jours du mois de

(95) *Presse Médic.*, 1937, p. 1512.

mars 1938, le poids de ces 4 lapins (n^{os} 29, 40, 45 et 46) était revenu pour chacun d'eux à sa valeur primitive, c'est-à-dire aux environs de 1.600 à 1.700 grammes.

On pouvait donc en déduire que l'infection dysentérique avait complètement disparu.

Le 5 mars, nous essayons la résistance de ces lapins à l'allergie salivaire, en les soumettant à l'habituelle triple injection intraveineuse de 10 cent. cubes de salive inactivée.

Le premier lapin, n^o 29, de 1.700 grammes meurt en proie à des convulsions, peu après la troisième injection. A l'autopsie on trouve une intense congestion veineuse de tous les organes abdominaux, intéressant d'une manière particulière l'épiploon qui était, d'autre part, parsemé de cysticerques. Dans les poumons s'observaient pareillement de petites pétéchies lenticulaires caractéristiques.

Les trois autres lapins, du poids respectif de 1.600, 1.650 et 1.700 grammes, survécurent en présentant seulement, par la suite, de légères oscillations pondérales.

Bien plus, chez le lapin n^o 40, de 1.600 grammes, qui avait supporté la triple injection intraveineuse sans manifester le moindre malaise, mais en présentant seulement une légère diminution de poids, les injections intraveineuses de 10 cent. cubes furent répétées durant six autres jours. En tout, du 5 au 14 mars, c'est-à-dire pendant dix jours seulement, ce lapin avait supporté 9 injections intraveineuses de 10 cent. cubes chacune. Son poids était tombé jusqu'à 1.410 grammes. Mais, par la suite, l'animal s'était complètement rétabli et son poids avait remonté à 1.870 grammes.

Nous décidâmes alors de répéter pour la seconde fois la triple injection salivaire intraveineuse de 10 cent. cubes. L'animal accusa encore une fois une légère diminution de poids, mais se rétablit bientôt et survécut. Peu de temps après il avait atteint le poids de 1.900 grammes !

Ces faits nous conduisent à retenir qu'une toxi-infection causée par un microbe aussi typiquement entérotrope et toxigène que le bacille de Shiga, peut prémunir assez bien contre l'attaque d'allergie salivaire hémorragique. L'insuccès constaté chez le lapin n^o 29 peut être attribué au fait que l'animal

était très infesté de cysticerques. Nous avons eu plusieurs fois l'occasion de remarquer que la présence de ces parasites dans la cavité abdominale des lapins, place toujours ces animaux en état de faible résistance contre les infections.

Ayant, à notre avis, suffisamment déterminé les conditions essentielles concernant ce curieux phénomène, nous nous sommes posé une dernière question.

Du moment que le liquide salivaire, privé par décantation, de ses détritits cellulaires et de sa flore bactérienne multiforme, reste totalement inoffensif et inopérant, à quels éléments de la salive devons-nous imputer les actions préparante et déchainante du phénomène allergique ?

Sont-elles imputables aux produits cellulaires ou aux bactéries de la salive ?

L'impossibilité absolue où l'on est de séparer dans la salive ces éléments intimement liés les uns aux autres nous a obligé à recourir à l'expédient d'injecter dans les veines des animaux les seuls produits cellulaires ou les seules bactéries.

Pour obtenir une émulsion d'éléments cellulaires comparable, au point de vue de sa teneur en matière organique, à la salive intégrale, mixte, normale, employée dans nos expériences, nous avons eu recours au contenu purulent d'un abcès froid recueilli à la Clinique chirurgicale de l'Université. Les cultures de ce pus n'avaient donné lieu à aucun développement bactérien et l'examen bactérioscopique avait été négatif. De même, les cultures sur milieu à l'œuf étaient restées stériles.

Ce pus, qui était très dense et apparemment amicrobien, fut dilué dans une solution physiologique en proportions convenables pour former une émulsion qui, à l'analyse chimique, se présentait comme possédant une teneur en matière organique à peu près égale à celle de notre salive, c'est-à-dire 3,80 p. 100.

Ainsi préparés, les divers tubes renfermant l'émulsion de pus furent mis pendant une demi-heure, ainsi que nous l'avions toujours fait pour la salive, au bain-marie à 60°.

Les lapins inoculés à plusieurs reprises dans les veines avec 10 cent. cubes de cette émulsion, n'ont jamais présenté de réaction allergique.

Les trois injections intraveineuses faites à vingt-quatre heures d'intervalle l'une de l'autre furent toujours bien supportées par les animaux.

Vu ce résultat négatif, on continue encore, durant cinq et

six autres jours, chez deux de ces lapins (n^{os} 68 et 69), du poids respectif de 1.500 et 1.950 grammes, les injections intraveineuses. Le lapin 68 succomba après la huitième injection et le lapin 69 après la neuvième, l'un et l'autre en proie à un fort amaigrissement. Le poids du premier était descendu à 1.200 grammes et celui du second à 1.600. Les constatations anatomiques restèrent, cependant, insignifiantes. Aucune lésion particulière. Les animaux étaient évidemment morts de marasme dû à l'action nocive de l'émulsion purulente stérilisée.

Un gros lapin (n^o 70) de 2.100 grammes avait bien résisté à six injections intraveineuses consécutives de 10 cent. cubes de la même émulsion de pus. Cinq jours après la dernière injection, son poids était diminué de 170 grammes seulement. Soumis à la triple injection salivaire, dans le but de voir si les précédentes injections l'avaient rendu plus résistant à l'attaque allergique, subitement après la troisième injection intraveineuse, le lapin présente des malaises et meurt en quarante-cinq minutes environ, sans attaque convulsive. L'autopsie montre l'un des tableaux les plus typiques et les plus graves de l'allergie salivaire hémorragique : sérosité hémattique dans le péritoine, hémorragies diffuses le long des muscles psoas ; anses intestinales énormément congestionnées, diarrhéiques et de couleur hortensia ; vessie contractée et vide ; poumons parsemés de nombreuses pétéchies extrêmement caractéristiques, etc. Cultures négatives.

En conclusion : les injections intraveineuses d'une émulsion de pus, antigène leucocytaire comparable à la salive du point de vue de sa teneur en matière organique, ne provoquent pas, chez les lapins, le phénomène de l'allergie hémorragique. De telles injections ne restent cependant pas indifférentes. Elles exercent une action toxique qui est progressive et cachectisante et, à la longue, elles font périr les animaux. Mais, les animaux qui ont bien supporté de multiples injections intraveineuses de l'antigène leucocytaire, ne manifestent aucune prémunition ou résistance envers l'attaque allergique salivaire.

Il est, par conséquent, difficile d'admettre, sans plus, que l'allergie provoquée par les injections de salive puisse être de

nature protéique, c'est-à-dire imputable aux seuls éléments cellulaires et à leurs débris contenus dans la salive humaine normale.

Résultats négatifs aussi en injectant dans la veine du lapin des émulsions bactériennes.

Celles-ci furent préparées en émulsionnant dans du sérum physiologique une certaine quantité du contenu diarrhéique provenant du cæcum d'un lapin mort à la suite d'une crise allergique. On sait que cette matière fécale est constituée presque totalement par des bactéries qui, à de nombreux égards, rappellent celles de la flore salivaire.

Après un séjour de quarante-huit heures dans la glacière, l'émulsion fécale fut filtrée, une première fois sur papier-filtre ordinaire et une seconde fois sur filtre finement poreux. Le liquide filtré, un peu trouble, avait une couleur brunâtre et une réaction légèrement alcaline. L'analyse révélait 5,6 p. 100 de matière organique. Pour ramener cette teneur à celle (3,80 p. 100) de notre salive, nous avons simplement ajouté à l'émulsion fécale mère un tiers de sérum physiologique. Après quoi, l'émulsion fécale fut stérilisée pendant trois jours consécutifs à 60°.

Les injections intraveineuses quotidiennes de 40 cent. cubes n'ont jamais déterminé de crise allergique. Ces injections, tout comme celles de pus, manifestent une action indubitablement nuisible au cours de laquelle les animaux maigrissent subitement, à partir de la première injection. Si, ensuite, les injections sont répétées quotidiennement de 6 à 8 fois, les lapins de poids moyen finissent par mourir. Mais, à l'autopsie, on ne découvre aucune lésion qui puisse être rapportée à une crise allergique. Dans ces cas également, les animaux meurent amaigris et diarrhéiques.

Le résultat de ces expériences rend assez difficile, au moins pour le moment, d'exprimer une opinion sur la nature réelle de l'allergie hémorragique obtenue au moyen des injections intraveineuses de salive et sur les rôles respectivement attribuables, dans la production de ce phénomène, aux divers éléments constitutifs du liquide salivaire.

Il faut se borner à de simples hypothèses.

Le seul fait positif ressortant des expériences décrites dans ce dernier chapitre concerne la résistance présentée à l'attaque

d'allergie salivaire hémorragique, par les animaux ayant subi antérieurement une infection non grave, provoquée par des cultures atténuées de germes toxigènes et entérotropes, tels que les bacilles dysentériques.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

Résumant les résultats de nos recherches, nous croyons pouvoir conclure :

1° Le phénomène de l'allergie hémorragique qui a été signalé et décrit par nous pour la première fois et que, pour cette raison, les auteurs ont proposé de reconnaître comme « phénomène de Sanarelli », a pu être reproduit et étudié expérimentalement, toujours en s'inspirant de nos indications et directives, par un grand nombre de chercheurs. Le phénomène a pu être observé dans presque tous les organes et tissus de l'organisme, par l'emploi d'antigènes préparants ou déchaînants les plus divers. Nos expériences actuelles ont démontré que l'allergie hémorragique peut être réalisée chez les lapins, même en employant comme antigène la salive mixte intégrale humaine recueillie directement de la cavité orale.

2° Mais, pour reproduire l'allergie salivaire hémorragique, il ne suffit pas de faire deux injections : l'une préparante et l'autre déchaînante, à vingt-quatre heures d'intervalle, comme pour obtenir chez les lapins le « phénomène de Sanarelli ». En employant la salive, nous avons besoin, au contraire, de 3 injections, toujours pratiquées dans la veine, à vingt-quatre heures l'une de l'autre.

3° Peu de temps après la troisième injection intraveineuse, les animaux sont subitement pris d'accès dyspnéiques et convulsifs, suivis rapidement de mort. A l'autopsie, on trouve habituellement des altérations anatomiques graves et caractéristiques : sang dans le péritoine, congestion intense de tous les organes et de toutes les muqueuses, fréquentes hémorragies dans certains viscères : parois intestinales, muscles psoas, cornes utérines, reins, mais plus spécialement dans les poumons. Ici les hémorragies apparaissent à l'extérieur sous forme de pétéchies lenticulaires, souvent assez nombreuses. Ces

hémorragies lenticulaires ressemblent à celles du type « vanessa », qui s'observent dans les poumons des cobayes ayant succombé à l'infection spirochétienne. L'examen microscopique des sections du poumon pratiquées au niveau de ces pétéchies superficielles confirme que celles-ci sont dues à la rupture brusque des capillaires alvéolaires, qui donne lieu à une inondation sanguine dans certaines zones du parenchyme pulmonaire.

4° Pour déclencher chez les lapins l'attaque d'allergie salivaire hémorragique, il faut pratiquer les injections avec de la salive mixte stérilisée pendant une heure, au bain-marie à 60°. Les injections de salive naturelle, c'est-à-dire non stérilisée, sont à exclure, parce que, faites aux doses nécessaires pour déterminer la crise allergique, elles produisent sûrement, chez les lapins, la septicémie streptococcique.

5° Les injections sous-cutanées ou péritonéales de salive stérilisée à la température indiquée sont généralement bien tolérées par les animaux. Elles peuvent, dans la plupart des cas, être répétées plusieurs fois de suite, mais sont incapables de déclencher la crise allergique. Elles déterminent seulement une diminution progressive du poids et, à la longue, peuvent aussi faire mourir les animaux de cachexie.

6° Les doses de salive qui ont été reconnues nécessaires pour chacune des injections intraveineuses afin d'obtenir, après la troisième injection, l'apparition de la crise allergique mortelle, sont de 10 cent. cubes. Des doses moindres de salive, même injectées durant quelques jours de suite, sont, au contraire, bien tolérées. Dans ces cas, l'organisme animal a, sans doute, le temps et la manière de se libérer, par ses émonctoires naturels, de toutes les bactéries salivaires et des copieux détritus protéiques qui sont déversés chaque fois dans la circulation sanguine.

7° Si les doses de salive inactivée introduites dans les veines sont un peu plus élevées ou pratiquées à une plus grande fréquence, les lapins souffrent de gastro-entérite chronique, due, selon toutes probabilités, à l'action toxique exercée sur les parois gastro-intestinales, surtout par les protéides de la flore bactérienne salivaire. Dans ces cas, les animaux s'alimentent

toujours moins, maigrissent progressivement et finissent par mourir de cachexie.

Par contre, les injections intraveineuses de salive inactivée mais décantée, c'est-à-dire dépouillée par décantation spontanée de ses principaux composants microbiens et cellulaires, sont très bien supportées, même si elles sont pratiquées à doses élevées et pendant plusieurs jours de suite. Cela signifie que les effets allergisants du liquide salivaire sont uniquement dus à ses composants figurés.

8° Outre les réactions allergiques viscérales obtenues au moyen d'injections intraveineuses de salive, on peut provoquer, chez les lapins, de la réactivité hémorragique même dans le tissu cutané, chaque fois que ce dernier a été opportunément préparé au moyen d'injections intradermiques de salive, même à doses minimes.

9° La réactivité salivaire cutanée peut être provoquée en employant également la salive naturelle, c'est-à-dire non stérilisée à 60°. Dans ce cas, les petites doses (0 c. c. 2) de liquide salivaire injecté dans le derme, ne sont pas suffisantes pour déterminer une septicémie streptococcique. La dernière injection intraveineuse déchaînante, de salive inactivée, exécutée au troisième jour, chez les lapins préparés par voie intradermique, tue comme d'habitude les animaux par choc allergique. A l'autopsie, outre la réaction hémorragique locale, on constate le tableau typique de l'allergie viscérale, aggravé par la néphrite, comme cela s'observe toujours dans les septicémies streptococciques.

10° Les lapins antérieurement soumis à des injections intraveineuses faibles et supportables de salive inactivée, deviennent résistants à l'égard de l'allergie salivaire hémorragique provoquée par la triple injection intraveineuse. Les mêmes lapins semblent si bien prémunis, qu'ils sont en mesure de supporter impunément, après la première épreuve, une nouvelle triple série d'injections intraveineuses à doses allergisantes. La possibilité existe donc de déterminer une facile prémunition ou préparation salivaire antiallergique.

11° Inversement, il n'est pas possible d'obtenir de préparation salivaire antiallergique au moyen d'injections sous-cutané-

nées ou péritonéales de salive. Il semble aussi que les injections sous-cutanées, quoique bien supportées en apparence, diminuent la résistance des lapins vis-à-vis des crises allergiques provoquées par la suite et rendent également possible l'apparition d'une néphrite hémorragique, qu'on n'observe jamais lorsque la crise allergique se déclenche chez des lapins neufs. De même les injections intraveineuses de salive décantée, c'est-à-dire privée de presque tous ses éléments figurés (cellules et bactéries), ne sont pas capables de réaliser une préparation ou prémunition allergique quelconque.

12° L'allergie salivaire hémorragique ne semble pas avoir un caractère de stricte spécificité. En fait, les lapins qui ont pu surmonter une faible infection spécifique, déterminée par des microbes aussi nettement entérotropes et toxigènes que les bacilles dysentériques, apparaissent bien prémunis contre l'attaque allergique provoquée par la triple injection salivaire intraveineuse.

13° Des injections intraveineuses pratiquées avec des émulsions de leucocytes (corpuscules pyoïdes) ou avec des émulsions bactériennes (bactéries fécales) dans le but de connaître quels sont les agents préparants ou déchaînants des crises allergiques salivaires et de déterminer si ces dernières sont dues aux granulocytes salivaires ou aux microbes de la salive, n'ont pas permis de résoudre la question. Les injections pratiquées avec ces matériaux semblent incapables de provoquer des crises allergiques du type hémorragique. Elles ne sont cependant pas indifférentes pour les animaux puisqu'elles produisent une cachexie mortelle lorsqu'on les répète plusieurs fois.

RECHERCHES SUR LA PRÉSENCE DU BACILLE TUBERCULEUX DANS LE LAIT ET LES PRODUITS DÉRIVÉS

par A. DE GROLIER et Th. VOICULESCO.

*(Institut Pasteur. Laboratoires de Recherches
sur la Tuberculose.)*

Les recherches concernant l'isolement du bacille tuberculeux du lait et de ses sous-produits se sont multipliées dans ces dernières années.

C'est en Angleterre, où l'on fait une grande consommation de lait cru, que ces recherches ont été les plus nombreuses et les plus systématiques. On y a examiné toutes sortes de laits : laits pris à la ferme, individuellement pour chaque vache ou en mélange, laits de commerce des villes, laits de mélange prélevés aux stations de chemin de fer, laits en bidons, laits considérés comme pasteurisés (pasteurisation haute, etc.). La thèse de M. Gervois : *Le bacille de type bovin dans la tuberculose humaine*, nous indique que 75.434 examens de laits ont été faits jusqu'en 1937, en Grande-Bretagne et en Irlande, avec 5.248 résultats positifs, soit 6,9 p. 100.

Parmi les travaux les plus importants, il faut citer ceux de Delépine (1898-1917), de J. W. Edington et de D. Guest (1926), de W. G. Savage (1931), de S. H. Gaiger et de G. O. Davies (1931 et 1932), de D. S. Rabagliati (1931), de H. L. Torrance (1932 à 1934), de S. H. Gloyne (1932), de E. H. Pullinger (1934), de T. Ruddock-West et F. T. Alpe (1936).

Aux Etats-Unis, les recherches ont été moins nombreuses. On y a examiné 1.476 échantillons de laits (1893 et 1937) avec 126 résultats positifs, donc 8,5 p. 100.

Au Canada, R. M. Price (1934), sur 400 échantillons de lait cru en bidons (200 échantillons) et de laits de mélange avant

pasteurisation (100), — les mêmes échantillons étant examinés aussi après pasteurisation —, trouve 34 échantillons positifs (8 pour les laits en bidon, le reste pour les laits non pasteurisés), donc 8,5 p. 100.

En *Allemagne*, le total des examens de laits effectués jusqu'en 1932, s'élevait à 3 395, avec 289 cas positifs (8,51 p. 100).

Pour le reste de l'Europe, les pays où les analyses bactériologiques de lait ont été les plus nombreuses sont : l'*Italie*, 544 examens avec 67 cas positifs (6,80 p. 100) ; la *Suisse*, 245 examens avec 20 cas positifs (8,1 p. 100) ; la *Pologne*, 297 examens avec 67 cas positifs (22,5 p. 100) ; la *Grèce*. B. Ananiadès et M. Papanarghyrou (1936), sur 35 échantillons de lait pris dans le commerce, à Salonique, n'en trouvent aucun contenant des bacilles tuberculeux. H. D. Boer, en *Hollande* (1934), examinant 200 échantillons de lait, a trouvé quatre fois des bacilles tuberculeux (deux fois le bacille bovin, deux fois le bacille humain). Enfin, au *Chili*, Paul Palacios et Juan de D. Rojas (1933) ne décèlent pas de bacilles tuberculeux sur 85 échantillons pris dans la ville de Santiago, mais 25 p. 100 d'autres bacilles acido-résistants.

En *France*, les recherches sont loin d'atteindre l'importance de celles faites en Angleterre ou en Allemagne, cependant l'infectiosité tuberculeuse du lait a été prouvée par les travaux de R. Legrand, Ch. Gernez, P. Crampon et E. Lefort (1938) : 75 examens avec 4 positifs (5,32 p. 100), de M. Warnery (1933) : 30 échantillons de laits examinés (24 de laits crus et 6 de laits pasteurisés) avec 2 résultats positifs (6,66 p. 100), W. Sarnowiec (1936) : 14 échantillons de laits avec 1 cas positif pour 1 échantillon de lait frais et 3 autres pour des échantillons de laits vieux, mais dans 1 seul de ces échantillons il s'agissait d'un bacille bovin.

La présence du bacille tuberculeux n'a pas été constatée seulement dans le lait, mais aussi dans tous les produits dérivés : beurre, crème, fromage. Les recherches de A. Lumière et de M^{lle} A. Dubois (1931) ont prouvé que, dans un lait qu'on a additionné de bacilles tuberculeux, ceux-ci ne s'amassent pas dans le beurre ni dans le petit-lait, mais dans le caséum. Ces recherches ont été confirmées en partie par

M. Warnery et par Ch. Gernez, F. Crampon et E. Lefort. M. Warnery, en soumettant à une centrifugation rapide et prolongée (3.500 tours pendant trente minutes) des échantillons de lait a obtenu 4 couches inégalement riches en bacilles :

Première couche.	Beurre sans bacilles.
Deuxième couche fine.	Crème avec quelques bacilles.
Troisième couche.	Petit-lait sans bacilles.
Quatrième couche.	Dépôt (caséum) nombreux bacilles.

On peut donc se rendre compte tout de suite de l'intérêt que peut avoir l'examen des fromages frais principalement et celui des crèmes.

La fréquence des bacilles tuberculeux dans les fromages ne paraît cependant pas être aussi grande, si l'on se réfère aux travaux de K. Goyal et M^{lle} G. Obermann (1936) : 15 échantillons examinés, tous négatifs ; de W. Sarnowiec (1936) : 10 échantillons, 1 positif (fromage exposé depuis longtemps) ; de E. J. Pullinger (1935) : 63 échantillons, tous négatifs ; de G. Sonnenheim et H. Meyer (1930) : 111 échantillons, tous négatifs. Seuls les résultats de J. Smith (1934) : 6 échantillons dont 2 positifs, et ceux de F. G. Harrisson (1902) : 5 échantillons dont 3 positifs, font exception.

Les crèmes sont au contraire très infectées. Sur 31 échantillons de crème crue, K. J. Pullinger (1935) trouve 16 cas positifs, soit 51,6 p. 100. Les mêmes crèmes, après pasteurisation, étaient stériles.

De nombreux travaux ont démontré, par ailleurs, la présence du bacille tuberculeux dans le beurre. On peut citer à ce sujet, pour l'Allemagne, les travaux de L. Rabinowitsch (1897) ; de Obermüller (1897), 14 échantillons examinés, tous positifs (?) ; de Petri (1898) : 102 examens, 33 positifs ; de Ascher (1899) : 27 examens, 2 positifs ; de Heer et Beninde (1901) : 52 examens, 8 positifs.

En Grande-Bretagne, A. Eastwood (1912) trouve sur 112 échantillons examinés, 5 positifs ; J. W. Edington (1934), sur 40 examens : 1 positif ; E. J. Pullinger (1935), sur 40 échantillons examinés ne signale dans aucun la présence du bacille tuberculeux, bien que 10 échantillons aient été préparés avec de la crème non pasteurisée.

Des recherches analogues ont été faites en Suisse, Italie, Hongrie, aux Etats-Unis, aux Pays-Bas, en Grèce, etc...

En France, sont à mentionner à ce sujet les travaux de F. K. Goyal et M^{lle} G. O. Obermann (1936) : 16 échantillons examinés avec un résultat positif et un douteux et ceux de W. Sarnowiec (1936) : 11 échantillons examinés avec 1 cas positif quand les échantillons de beurre étaient pris en surface au lieu d'origine et tout frais, et 3 cas positifs lorsque les mêmes beurres étaient restés exposés à la vente pendant trois jours. Les échantillons pris en profondeur ont été négatifs.

RECHERCHES PERSONNELLES.

Pour nos recherches, nous avons employé des produits du commerce, prélevés dans différents arrondissements de Paris, de préférence chez des petits détaillants, dans des quartiers très peuplés où la vente est très active et comporte souvent des produits de qualité inférieure, surtout pour le beurre.

Le lait provenait de 12 arrondissements : 5 échantillons ont été prélevés chez des commerçants des environs de Paris, un seul dans une ferme.

Le beurre et les fromages provenaient de diverses crèmeries et épiceries de 8 arrondissements de Paris.

Les échantillons de *crème* ont été prélevés dans 8 arrondissements, un seul dans la grande banlieue, à 40 kilomètres de Paris (département de Seine-et-Oise).

Les échantillons de yoghourt étaient de marques différentes. Tous ces produits furent employés frais.

Ils se répartissent comme il suit :

Echantillons de lait cru	43
Echantillons de beurre	22
Echantillons de crème fraîche	22
Echantillons de fromage : 6 petits suisses et demi-sels, 7 fromages blancs frais	13
Echantillons de yoghourt	8

Pour la recherche du bacille tuberculeux, nous avons eu recours principalement à l'inoculation au cobaye, à raison de 3 ou 4 animaux par échantillon ; surtout pour les échantillons de crème très contaminés par une flore microbienne

variée. Les animaux restaient en observation pendant trois ou quatre mois. Au bout de ce temps, ils étaient éprouvés à la tuberculine, puis sacrifiés. Lorsqu'ils ne présentaient qu'une légère hypertrophie des ganglions correspondants au lieu de l'inoculation, on ensemençait leurs organes sur le milieu de Löwenstein, après traitement par l'acide sulfurique. Parfois, une partie du broyage était inoculée à un autre cobaye que l'on sacrifiait après deux ou trois mois.

Le nombre total des échantillons éprouvés par l'inoculation au cobaye a été de 58 : 25 échantillons de lait, 8 de beurre, 14 de crème, 3 de fromage, 8 de yoghourt.

Comme ces sortes de recherches sont très longues et nécessitent un grand nombre d'animaux, nous avons essayé aussi de déceler les bacilles tuberculeux par la culture.

Tous ceux qui, dans ces dernières années, ont essayé cette méthode d'isolement se sont heurtés à de grandes difficultés, car la flore bactérienne sporulée est très abondante dans le lait. De ce fait, les résultats obtenus sont médiocres, comme en témoignent les nombreuses recherches de Gloyne, Warnery, Gernez, etc. et les nôtres.

Nous avons fait de très nombreux essais de culture, d'après les méthodes de Löwenstein et de Petroff, principalement avec le dépôt de centrifugation du lait. Nous avons employé l'acide sulfurique à 10 p. 100 et à 15 p. 100 en le laissant en contact avec le culot de centrifugation un temps variant entre vingt et trente minutes, à la température du laboratoire ou à 38°. Quelquefois, on agitait le mélange culot-acide sulfurique pendant dix à quinze minutes à l'agitateur électrique. Le culot était ensuite neutralisé avec de la soude ou ensemencé tel quel après égouttement des tubes à centrifugation sur papier buvard.

Il a été procédé de même avec la soude à 4, 6 ou 30 p. 100 sans plus de succès.

On a traité ainsi avec l'acide sulfurique à 10 ou 15 p. 100, avec ou sans neutralisation à la soude :

Echantillons de lait	14
Echantillons de beurre	2
Echantillons de crème	3
Echantillons de fromage	2

avec la soude à 4, 6 ou 30 p. 100, avec ou sans neutralisation du culot :

Echantillons de lait	6
Echantillon de beurre	1
Echantillon de crème	1
Echantillons de fromage.	3

De 8 ou 10 tubesensemencés, il n'en restait généralement qu'un ou deux qui ne fussent pas infectés.

La méthode que nous avons employée le plus souvent pour la culture est celle de Wolters et Dehmel à l'acide chlorhydrique à 15 p. 100 et à l'acide azotique à 15 p. 100, tant pour le lait que pour les produits dérivés du lait (beurre, crème, etc.). Nous avons suivi rigoureusement cette méthode pour nos cultures, mais nous avons fait desensemencements sur le milieu de Löwenstein glycérimé et surtout non glycérimé et sur le milieu au jaune d'œuf, au sérum de cheval ou de bœuf et au bouillon glycérimé à 5 p. 100, selon la formule de R. Laporte.

Nous avons traité par la méthode de Wolters et Dehmel ;

Echantillons de lait	20
Echantillons de beurre.	14
Echantillons de crème.	9
Echantillons de fromage.	7

En y ajoutant les divers essais de culture effectués selon les méthodes de Löwenstein et de Pétroff, nous obtenons le total de 83 essais de culture.

DÉTAIL DE LA MÉTHODE EMPLOYÉE.

Lait.

On centrifuge 200 à 300 cent. cubes de lait à 2.000-2.500 tours pendant trente minutes. Le dépôt, rarement très abondant, est recueilli en totalité, ainsi que la moitié ou le tiers de la crème restée à la surface. On mélange le tout dans un verre stérile et on porte au bain-marie à 40°. Le mélange est émulsionné dans 10 ou 15 cent. cubes d'eau physiologique. La plus grande partie est inoculée par voie sous-cutanée à raison de 2 à 5 cent. cubes par animal, à 2 ou 3, quelquefois 4 cobayes. Le reste du dépôt subissait les traitements variés dont nous avons parlé précédemment, avant d'êtreensemencé.

Sur 25 inoculations, faites avec les dépôts de 25 échantillons de lait, 18 l'ont été sans traitement préalable du culot de centrifugation ; les 7 autres après traitement, soit par la soude, soit par l'acide sulfurique. Dans 19 cas, en même temps que l'inoculation, on a fait aussi la culture.

Quand on procédait seulement à la culture, on n'employait que 30 c. c. de lait pour la centrifugation, le dépôt en ce cas étant plus que suffisant pour l'ensemencement. Quelquefois, on ensemençait le dépôt seul ou bien le mélange dépôt-beurre, d'autres fois on ensemençait le dépôt et le beurre séparément.

Beurre. — Pour l'isolement du bacille tuberculeux, à partir du beurre, nous avons employé la méthode déjà utilisée par Goyal et Obermann.

40 à 70 cent. cubes de beurre (le plus souvent 60 cent. cubes) fondu à 40° sont émulsionnés dans de l'eau physiologique, en remuant constamment avec une baguette stérile. L'émulsion est ensuite centrifugée à 2 200-3.600 tours. On émulsionne le dépôt dans de l'eau physiologique et on l'inocule à des cobayes presque en totalité, une partie servant pour la culture. Nous inoculons soit le dépôt seul à 2 cobayes et à 2 autres la matière grasse seule, soit le mélange matière grasse et dépôt.

On a inoculé ainsi : deux fois le culot de centrifugation, quatre fois le culot à deux cobayes, et le culot + matière grasse à deux autres, une fois la matière grasse seulement, une fois la matière grasse à deux cobayes et le culot + matière grasse à deux autres.

Crème.

30 à 60 cent. cubes de crème sont soigneusement émulsionnés dans de l'eau physiologique stérile, en agitant vigoureusement le mélange avec une baguette de verre stérile. Pour avoir une émulsion très homogène, on emploie jusqu'à 100 cent. cubes d'eau physiologique. On centrifuge ensuite cette émulsion pendant trente minutes à 2.000 tours.

On a inoculé le plus souvent le dépôt seul (12 fois) et deux fois seulement le dépôt et la matière grasse surnageante, cela sans traitement préalable, à 2 ou 4 cobayes.

Cinq fois, on a fait en même temps des cultures, en traitant le culot de centrifugation, soit selon la méthode de Petroff (2 fois), soit par l'acide sulfurique à 15 p. 100 à l'agitateur électrique et en ensemençant sans neutraliser (3 fois).

9 échantillons ont été éprouvés seulement par la culture, sept fois par la méthode de Wolters et Dehmel, deux fois par la méthode de Hohn.

Fromage. — Pour les fromages, nous avons employé de grosses quantités de produit.

40 à 60 grammes de fromage sont soigneusement broyés dans un mortier en ajoutant progressivement de l'eau physiologique stérile. On centrifuge ensuite l'émulsion à 2.000 tours ; le dépôt est toujours très abondant et une couche épaisse s'accumule à la surface. On prélève la totalité du dépôt et une partie de la couche superficielle qu'on émulsionne dans 20 à 25 centimètres cubes d'eau physiologique et que l'on inocule à 4 cobayes à raison de 4 ou 5 cent. cubes par animal.

Les cobayes supportent bien cette inoculation, l'émulsion se résorbant très vite, sans donner, comme le beurre, des réactions inflammatoires étendues et souvent mortelles. Il est rare que la flore microbienne du fromage soit aussi abondante que celle du lait et des crèmes.

Pour la culture on prend 10 à 12 cent. cubes du produit que l'on broie dans un mortier, soit avec de la soude à 4 p. 100 qui dissout parfaitement la caséine — mais ne détruit pas le *B. subtilis*, même après un contact de trente minutes à 38° — soit avec de l'acide sulfurique à 15 p. 100.

Pour empêcher la formation de gros grumeaux, on emploie de petites quantités d'acide ajoutées goutte à goutte pour obtenir l'émulsion initiale. On centrifuge pendant dix minutes à 3.000 tours. Le dépôt est émulsionné de nouveau dans quatre fois son volume d'acide et agité pendant un quart d'heure. On le centrifuge ensuite rapidement. La durée totale de l'opération, y compris le contact avec l'acide, ne dépasse pas trente-cinq à quarante minutes. Onensemence le dépôt généralement sans le laver, mais on égoutte les tubes qui le contiennent.

Trois échantillons seulement de fromages ont été inoculés à des cobayes, 2 sans traitement préalable, 1 après traitement par la soude à 4 p. 100; une fois on a fait en même temps la culture.

Les autres échantillons de fromage (12) ont été cultivés : 7 par la méthode de Wolters et Dehmel, 2 après traitement par l'acide sulfurique à 15 p. 100 pendant trente minutes — suivi de neutralisation, dans 1 cas ; sans neutralisation dans 1 autre cas — trois fois selon la méthode de Petroff.

Yoghourt.

30 cent. cubes de yoghourt environ (crème et caséine) sont intimement mélangés dans un mortier avec environ 60 cent. cubes de soude à 4 p. 100. On laisse le mélange pendant trente minutes à 38° et on le centrifuge à 2.800 tours. On lave le culot deux fois avant l'inoculation ou on le neutralise par l'acide sulfurique à 15 p. 100. Le dépôt et la crème ont été inoculés à 4 cobayes. Il n'a pas été fait de culture.

RÉSULTATS DES INOCULATIONS ET DES CULTURES.

Ces résultats sont résumés dans le tableau qui suit :

TABLEAU I.

PRODUITS examinés	INOCULATION	NOMBRE de cas positifs	INOCULATION et culture	NOMBRE de cas positifs	CULTURE seulement	NOMBRE de cas positifs	TOTAL des échantillons examinés	TOTAL des cas positifs
Lait	25	0	19	0	20	0	45	0
Beurre	8	1	4	0	1½	0	22	1
Crème	14	1	5	0	8	0	22	1
Fromage	3	0	1	0	10	0	13	0
Yoghourt.	8	1					8	1

Si on examine ce tableau, on remarque que des 45 échantillons de lait examinés, soit par inoculation au cobaye seulement, soit par l'inoculation et la culture, soit par la culture seule, aucun ne contenait de bacilles tuberculeux.

D'un cobaye inoculé avec l'échantillon *L21* on a isolé un bacille paratuberculeux ayant l'aspect du *Grasbacillus* de Möller : culture rugueuse, rapide sur tous les milieux, même dans le bouillon et la gélose ordinaires, colonies de couleur légèrement orangée, aucune virulence pour le cobaye, etc.

Sur 22 échantillons de beurre, un seul *B14* était infecté par des bacilles tuberculeux. Le bacille a été isolé de 2 cobayes inoculés avec le dépôt de 60 cent. cubes de beurre.

Le premier cobaye est mort le vingt-huitième jour après l'inoculation avec les ganglions correspondants (inguinaux et sous-lombaires) hypertrophiés et présentant un début de caséification. L'ensemencement des organes broyés a donné

très tardivement, après deux mois, des colonies isolées, rondes, petites, proéminentes, lisses.

Le second cobaye est mort après un mois, avec des lésions plus avancées. Cette souche, de virulence moyenne, a été identifiée au type bovin par inoculation intraveineuse au lapin.

De 15 échantillons de fromages examinés, on n'a isolé aucun bacille acido-résistant.

Au contraire, les crèmes se sont montrées souvent infectées : de 22 échantillons on a isolé quatre fois un bacille tuberculeux (C1, C3, C6, C15).

La souche C1 a été isolée d'un cobaye inoculé avec le dépôt de centrifugation et la matière grasse. Le cobaye est mort au bout de trois mois et demi de tuberculose généralisée. La culture du pus de l'abcès local et de la rate fut positive après six semaines. Inoculée par voie veineuse à la dose de 0 milligr. 01, elle tuait le lapin en six semaines, avec des lésions tuberculeuses massives des poumons.

La souche C3 a été isolée d'un cobaye mort environ trois mois après l'inoculation du culot de centrifugation de 30 c. c. de crème. Des organes de ce cobaye, qui présentait des lésions tuberculeuses peu avancées, on a obtenu une culture lisse, tardive (quarante jours). Inoculée à la dose de 0 milligr. 01 par voie veineuse à 2 lapins, cette souche a provoqué chez le premier, au bout d'un mois, une tuberculose pulmonaire, à granulations miliaires ; chez le second, une tuberculose généralisée en sept semaines.

La souche C6 a été isolée d'un cobaye mort quatre mois et demi après l'inoculation d'un dépôt de crème, avec des lésions de tuberculose généralisée. La culture des organes fut positive après un mois, sous forme de petites colonies, en gouttes de rosée à peine visibles. Cette souche, très dysgonique, a été identifiée au type bovin par inoculation au lapin.

Le cobaye dont on a isolé la souche C15 avait été inoculé avec le dépôt de centrifugation d'un échantillon de crème. Il est mort vingt-huit jours après. Le broyage du mélange de tous les organes a donné très tardivement (trois mois et quelques jours) des colonies arrondies, isolées (1 colonie sur 1 tube, 3 sur l'autre). La souche ainsi obtenue est très dysgo-

nique. Elle provoque chez le lapin, en deux mois, une tuberculose généralisée à la dose de 1/100 de milligramme.

De 8 *échantillons de yoghourt* on a isolé une seule fois un bacille tuberculeux de type, bovin virulent : un des cobayes inoculé avec l'*échantillon Y 7* étant mort quelques jours après l'inoculation, nous avonsensemencé ses organes sur des tubes de milieu à l'œuf. Six semaines après, on a observé sur un seul tube une colonie arrondie. Cette colonie émulsionnée dans 2 cent. cubes d'eau physiologique, a été inoculée à 1 lapin par voie veineuse et à 1 cobaye par voie sous-cutanée.

Le lapin est mort un mois après et le cobaye fut sacrifié après le même délai. Tous deux présentaient des lésions miliaries généralisées.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES.

Ce qui frappe quand on considère les résultats des recherches effectuées en France (tableau II), c'est la faible proportion des cas positifs en ce qui concerne la présence du bacille de Koch dans le lait. Sur 45 échantillons étudiés par nous, aucun n'a donné de culture, aucun n'a tuberculisé le cobaye.

TABLEAU II.

NOMS DES AUTEURS	LAIT	NOMBRE de cas positifs	BEURRE	NOMBRE de cas positifs	CRÈME	NOMBRE de cas positifs	FROMAGE	NOMBRE de cas positifs	YOGHOURT	NOMBRE de cas positifs
Balthazard et Aly-Zaky .	30	0								
R. Goyal et F. Obermann.			16	1			15	0		
A. de Grolier et Th. Voiculesco	45	0	22	1	22	4	13	0	8	1
R. Legrand, Ch. Gernez, R. Crampon et E. Lefort .	75	4								
W. Sarnowiec (1) . . .	14	1	11	1			10	1		
M. Warnery	30	2								
Total	194	7	49	3	22	4	38	1	8	1
Pourcentages	3,61		6,12		18,8		2,63		12,5	

(1) On n'a tenu compte que des isoléments obtenus de produits frais.

Cela tient, croyons-nous, à ce que le lait vendu aux consommateurs parisiens est, dans la plupart des cas, pasteurisé avant d'être livré à la consommation.

Sans atteindre les chiffres de E. Y. Pullinger (31,6 p. 100), le pourcentage des crèmes infectées, trouvé par nous, est assez élevé (18,8 p. 100). Il apparaîtrait plus élevé encore (28,8 p. 100), si, en éliminant les 8 échantillons éprouvés par la culture, méthode incertaine, on le calcule seulement sur 14 échantillons étudiés par l'inoculation au cobaye, méthode d'investigation plus sûre. C'est par cette méthode que nous avons obtenu les 4 souches isolées des crèmes.

L'inoculation du culot de centrifugation seule a été suffisante pour l'isolement des bacilles tuberculeux des crèmes et du beurre.

La matière grasse du lait, des crèmes et du beurre se résorbe mal dans le tissu conjonctif du cobaye, l'inoculation est souvent suivie d'accidents mortels, précoces, d'ordre infectieux. Au contraire, le culot, même quand il renferme une nombreuse flore microbienne, si elle n'est pas particulièrement virulente, est facilement résorbé en quelques jours. Sur 97 cobayes inoculés avec le dépôt de centrifugation et le beurre du lait, nous avons perdu 24 animaux en quelques jours après l'inoculation, 2 seulement parmi les cobayes inoculés avec le dépôt seul. Quand d'un échantillon de beurre nous avions inoculé le dépôt et la matière grasse, les animaux mouraient très vite, tandis que ceux du même lot inoculés avec le dépôt seul restaient vivants.

Nous avons toujours inoculé le culot de centrifugation de grandes quantités de produit ; par exemple le culot de 200-250 cent. cubes de lait a été inoculé à 3 ou 4 cobayes, ce qui correspond à 60 cent. cubes de lait par cobaye. S. Delépine inoculait le dépôt de 20 cent. cubes de lait par cobaye ; W. J. Savage le dépôt de 200 cent. cubes ; la Commission Royale environ 10-30 cent. cubes de lait non centrifugé ou le dépôt de 40 cent. cubes de lait ; S. R. Gloyne le dépôt de 50 cent. cubes ; E. Y. Pullinger celui de 100 cent. cubes de lait, plus 1 cent. cube de crème ; M. Warnery de 20 à 25 cent. cubes ; B. Ananiadès et M. Papanarghyrou 20 cent. cubes, etc., etc.

Il est très important aussi de ne pas sacrifier les animaux trop tôt car, en général, d'après nos observations, la tuberculose chez le cobaye se développe assez lentement, probablement parce que le dépôt inoculé contient peu de bacilles.

Il faut aussi toujours prendre la précaution d'ensemencer les organes des animaux morts précocement. Les souches C1 et Y7 ont été isolées, la première d'un cobaye mort le vingt-huitième jour, alors qu'il ne présentait qu'une légère hypertrophie ganglionnaire, la seconde d'un cobaye mort le sixième jour après l'inoculation.

En ce qui concerne la culture directe, il semble qu'il soit nécessaire de la pratiquer sur une grande échelle pour obtenir quelques résultats positifs. P. Ruddock-West et F. P. Alpe ont examiné 705 échantillons de lait par culture et ont obtenu 45 résultats positifs (4,9 p. 100) ; S. R. Gloyne 300 avec 7 échantillons positifs (2,33 p. 100) ; K. L. Wolters et H. Dehmel 400 avec 16 résultats positifs (4 p. 100).

Sur 83 essais de culture, dont 50 par la méthode de Wolters et Dehmel, nous n'avons obtenu aucune culture.

La méthode de choix reste l'inoculation au cobaye. Chaque fois qu'on a fait comparativement l'inoculation et la culture, le pourcentage des cas positifs, décelé par l'inoculation, dépassait celui obtenu par la culture seule. Ainsi K. L. Wolters et H. Dehmel, sur 234 échantillons de lait du commerce, obtiennent 4 cas positifs de plus par l'inoculation ; sur 20 isolements de bacilles bovins, obtenus par ces auteurs, 14 l'ont été par l'inoculation seule, 4 par l'inoculation et la culture et 2 par la culture seule.

RÉSUMÉ ET CONCLUSIONS.

En recherchant la présence du bacille tuberculeux dans 45 échantillons de lait, 22 de beurre, 22 de crème, 13 de fromage et 8 de yoghourt, au total 110, nous avons réussi à isoler six fois des bacilles bovins virulents ; une fois du beurre, quatre fois de la crème, une fois du yoghourt.

Dans les 45 échantillons de lait examinés, nous n'avons trouvé aucun bacille tuberculeux. Un bacille paratuberculeux a été cultivé.

L'absence de bacilles tuberculeux dans le lait est due probablement à la pasteurisation préalable de cet aliment avant qu'il soit livré au consommateur parisien.

De deux méthodes employées pour la recherche du bacille tuberculeux dans le lait et les produits dérivés, la culture et l'inoculation, celle-ci est la méthode de choix.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] B. ANANIADES et U. PAPANARGHYROU. *C. R. Soc. Biol.*, **123**, 1936, p. 776.
- [2] BALTHAZARD et ALY-ZAKY. *Congrès intern. de la Tuberculose*, 1906, p. 209.
- [3] H. D. BOËR. *Meded. Inst. praevent. Genesek*, 1934, p. 90.
- [4] M. GERVOIS. Le bacille de type bovin dans la tuberculose humaine. Revue de la documentation actuelle. *Thèse* 1937, Lille.
- [5] L. RODHOUSE GLOYNE. *Tubercle*, **13**, 1932, p. 443-450 et 448-498.
- [6] R. K. GOYAL et M^{lle} OBERMANN. *C. R. Soc. de Biol.*, **121**, 1936, p. 306.
- [7] R. LEGRAND, CH. GERNEZ, P. CRAMON et E. LEFORT. *C. R. Soc. de Biol.*, **128**, 1938, p. 204.
- [8] A. LUMIÈRE et M^{lle} DUBOIS. *C. R. Acad. Sc.*, **192**, 1931, p. 21.
- [9] Raoul PALACIOS et JUAN DE D. ROJAS. *Rev. Inst. Bact. Chile*, **4**, 1933, p. 25. Réf. : *Zbl. f. die Ges. Tbk. Frschg.*, **40**, 1934, p. 600.
- [10] E. PIASECKA-ZEYLAND. *Gruzlica*, **11**, 1936, p. 445-448. Réf. : *Zbl. f. die Ges. Tbk. Frschg.*, **46**, 1937, p. 318.
- [11] R. M. PRICE. *Canada publ. Health Jl.*, **25**, 1934, p. 13.
- [12] E. J. PULLINGER. *The Lancet*, 1934, p. 967.
- [13] T. RUDDOCK-WEST et F. T. ALPE. *Jl. St. med.*, **44**, 1936, p. 543-545.
- [14] W. SARNOWIEC. *C. R. Soc. Biol.*, **123**, 1936, p. 370.
- [15] M. WARNERY. *Rev. Tuberc.*, **1**, 1933, p. 959.
- [16] K. L. WOLTERS et H. DEHMEL. *Ztschr. Infektionskr. Haustiere*, **39**, 1931, p. 102.

SUR LA PRÉPARATION DE MEMBRANES ULTRAFILTRANTES

par P. GRABAR et J. A. DE LOUREIRO.

(Institut Pasteur.)

Les membranes en nitrocellulose de porosité graduée peuvent rendre et ont déjà rendu de grands services dans l'étude des protéïdes, des enzymes, des virus, etc. [8, 11]. Pour obtenir une membrane ultrafiltrante on transforme une solution de nitrocellulose en un gel, c'est-à-dire en un système rigide possédant des interstices remplis de liquide, ce dernier pouvant être déplacé pendant la filtration. On sait que les membranes obtenues par évaporation de solutions de nitrocellulose dans des solvants volatils ont une structure plus régulière que celles obtenues par précipitation des collodions acétiques [4]; nous nous limiterons donc à l'étude des premières.

Asheshov [4] a indiqué que des membranes de diverses porosités peuvent être obtenues par l'addition de petites quantités d'acétone ou d'alcool amylique à une solution-mère de nitrocellulose dans de l'alcool-éther. Elford [5] a adopté ce principe et a mis au point une excellente technique de préparation de membranes. Elles sont connues sous le nom de membranes Gradocol et ont servi au cours de ces dernières années à de très nombreuses études. Pour préparer ces membranes on part d'une solution-mère de nitrocellulose contenant de l'alcool éthylique, de l'éther, de l'acétone et de l'alcool amylique, à laquelle on ajoute, pour faire varier la porosité des membranes, de petites quantités de divers liquides. Elford, Grabar et Ferry [6] ont essayé d'expliquer les variations de porosité par l'action antagoniste des solvants et des précipitants de la nitrocellulose dans le mélange. Mais cette explication ne permet pas de se rendre compte du mécanisme intime de la formation de membranes de diverses porosités. Or, il serait utile

d'avoir des connaissances plus précises afin d'éviter l'empirisme qui prévaut dans les techniques de préparation des membranes.

Grabar et Nikitine ont montré que les membranes Gradocol, tout en étant les plus homogènes parmi les ultrafiltres connus, possèdent néanmoins une dispersion non négligeable dans la grandeur des diamètres de leurs pores [14]. L'emploi de l'ultrafiltration pour la purification, l'isolement ou la mesure de particules submicroscopiques est de ce fait limité, et l'interprétation des résultats obtenus par l'ultrafiltration est rendue délicate [12].

L'examen de préparations microscopiques de ces ultrafiltres nous a permis de voir que la variation de leur porosité dépend des dimensions des agrégats de nitro-cellulose qui les composent [13]. Nous avons ainsi été amenés à étudier les facteurs qui peuvent avoir une action sur les dimensions de ces agrégats, en essayant en même temps d'élaborer une technique moins empirique et pouvant donner des membranes plus homogènes, ayant une dispersion plus restreinte dans les grandeurs des diamètres de leurs pores.

Nous avons tout d'abord étudié la gélification de solutions de nitrocellulose dans un mélange de deux liquides (chapitre I); nous avons ensuite essayé d'établir pour les solvants organiques usuels une classification d'après les effets qu'ils peuvent produire sur la structure et la porosité des membranes (chapitre II); ces études nous ont permis d'indiquer les principes d'une technique de préparation de membranes homogènes de toutes les porosités (chapitre III).

CHAPITRE I

Gélification des solutions de nitrocellulose dans des mélanges de deux liquides.

Afin de faciliter l'exposé, voici les définitions de quelques termes que nous utiliserons fréquemment :

1° Nous appelons *un solvant* un liquide capable de donner avec la nitrocellulose un système parfaitement fluide, et *un gélifiant* un liquide

capable de former des gels et de gonfler des agrégats secs de nitrocellulose sans changer leur structure (voir chapitre II pour plus de détails).

2° Sous les expressions de « gonflement du gel » (G_g) et « gonflement de la membrane » (G_m) nous entendons le rapport liquide/solide (en poids) dans les gels ou membranes.

3° La porosité des membranes est exprimée par le « diamètre moyen des pores » ($2R$, en $m\mu$). Cette donnée ne correspond pas au diamètre moyen réel [14], mais elle permet une simple classification des membranes d'après leurs porosités relatives.

Un collodion ordinaire a au moins trois constituants : la nitrocellulose, un solvant et un gélifiant. Si ce dernier est le moins volatil, le mélange, en s'évaporant, s'appauvrit progressivement en solvant et le système se transforme en gel. Il est évident qu'on ne peut pas employer un gélifiant (dont le représentant typique est l'alcool éthylique) seul, puisque ces liquides ne dissolvent pas les nitrocelluloses employées pour la préparation des membranes ultrafiltrantes. L'évaporation d'une solution de nitrocellulose dans un de ces solvants aboutit bien à la formation d'une membrane, mais le système ne devient rigide que lorsque tout le solvant a été évaporé et la membrane est pratiquement imperméable, ce n'est pas un gel. Il s'ensuit que le système le plus simple pouvant donner un gel perméable est un système ternaire, comme l'est le collodion à l'alcool-éther ordinaire. L'emploi d'autres solvants peut modifier certaines propriétés des membranes, mais le mécanisme général de leur formation reste le même.

Nous ne reviendrons pas sur l'énumération des divers facteurs ayant une action sur la porosité finale d'un ultrafiltre, ainsi que sur le fait bien connu que l'on peut obtenir des membranes de diverses porosités en faisant varier certains de ces facteurs (1).

On peut envisager la préparation des membranes comme étant constituée par deux périodes : dans la première, la solution est amenée à l'état d'un gel et, au cours de la deuxième, ce gel est transformé en une membrane. La structure de cette dernière est fixée surtout pendant la première période ; il est en effet difficile d'imaginer un réarrangement important des

(1) Voir par exemple [8] et [10].

agrégats de nitrocellulose dans le gel déjà formé, à condition de ne pas le soumettre à des traitements trop violents. Comme nous allons le voir, son gonflement est modifié par le lavage et la stérilisation, mais la structure fondamentale ne doit pas être atteinte. Il en résulte que l'obtention de membranes homogènes, c'est-à-dire ayant des pores de dimensions uniformes, dépend surtout de la régularité de la structure du gel et que, par conséquent, ce sont les facteurs agissant au cours de la formation du gel qui sont importants. Parmi ces facteurs, la composition de la nitrocellulose, la température et l'humidité atmosphérique ont des effets difficiles à contrôler et il est préférable de les maintenir aussi constants que possible. Nous nous arrêterons, par contre, sur la discussion des effets des variations de la vitesse d'évaporation et de la composition des solutions de nitrocellulose.

A. — VITESSE D'ÉVAPORATION.

Lorsque l'on observe une solution de collodion en évaporation à l'air libre, on voit, à la surface du liquide, des figures polygonales. Ces figures qui subsistent même après la formation du gel, correspondent aux « tourbillons de Bénard » [2] et sont dues aux colonnes ascendantes de vapeurs ; ces tourbillons disparaissent lorsque l'on arrête l'évaporation, en couvrant la solution avec une plaque en verre par exemple. Ces tourbillons produisent des différences locales dans la composition du liquide (et, surtout, dans la fixation de l'humidité atmosphérique) entre le centre et la périphérie des figures polygonales. Il en résulte des irrégularités dans la structure du gel, comme nous avons pu l'observer sur des préparations microscopiques et sur des membranes au cours de leur séchage [13]. Nous croyons que ces irrégularités jouent un rôle important dans la « dispersion dans la grandeur des diamètres » des pores, puisqu'il est logique d'admettre qu'à ces irrégularités de structure correspondent des porosités différentes.

Pour obtenir des gels plus réguliers, il faut donc atténuer la formation des « tourbillons de Bénard » en diminuant la vitesse de l'évaporation. Ce but peut être atteint en évitant l'emploi de solvants trop volatils et en couvrant le liquide en évaporation

par des couvercles plus ou moins perméables qui ralentissent le départ des vapeurs des solvants.

Si l'évaporation est suffisamment lente, la solution en évaporation peut être considérée, en première approximation, comme ayant à chaque moment une composition homogène. Dans ces conditions, la gélification doit être un phénomène pour ainsi dire instantané, qui correspond à une certaine composition définie du système en évaporation. Nous avons pu observer des gélifications de certaines membranes, où cette transformation est accompagnée d'opacification, et constater qu'elle se produit uniformément et rapidement. Ainsi donc, il y a, dans le processus de l'évaporation, une discontinuité nette au moment de la gélification et la composition du système est à ce moment fonction de la composition du liquide initial (voir plus bas).

B. — COMPOSITION DE LA SOLUTION INITIALE.

Lorsque l'on soumet à l'évaporation du collodion à l'alcool-éther, par exemple, les proportions relatives des trois constituants changent graduellement. Mais il serait erroné de croire qu'au moment de la gélification le système est constitué uniquement par la nitrocellulose et de l'alcool, car il y reste un peu d'éther et, comme nous allons le voir, cette petite quantité de solvant joue un rôle important. Le gel a donc au moins trois constituants, et nous disons « au moins » puisqu'il y a encore un quatrième constituant : l'eau provenant, d'une part, des liquides employés et, d'autre part, de la fixation de l'humidité atmosphérique. Pour simplifier, nous ne tiendrons pas compte, dans ce qui suit, de ce quatrième constituant en admettant que son action reste constante. Cette manière de voir est justifiée lorsque l'humidité atmosphérique n'est pas trop élevée et l'évaporation suffisamment lente pour ne pas provoquer une forte baisse de la température du liquide en évaporation.

On admet, d'une manière générale, qu'une augmentation de la teneur de la solution initiale en gélifiant (généralement alcool éthylique), donc une diminution du rapport solvant/gélifiant, a pour effet de donner des membranes plus poreuses. Il est évident que plus la proportion en alcool du liquide initial est

grande, plus le gel, au moment de sa formation, sera riche en liquide. On considère que la totalité du liquide contenu dans une membrane correspond au volume occupé par les pores, il semblerait donc que plus le gonflement d'une membrane est grand, plus elle devrait être poreuse. Mais cette explication est insuffisante. Nous avons pu montrer [43], par des examens microscopiques de membranes Gradocol ayant une teneur en eau presque constante, mais des porosités allant depuis $2R = 3.000 \text{ m}\mu$ jusqu'à environ $100 \text{ m}\mu$, que c'est la dimension des agrégats de nitrocellulose qui est le facteur principal, responsable des diverses porosités. Nous croyons que dans les systèmes ternaires, plus simples que les mélanges utilisés dans la fabrication des membranes Gradocol, il en est de même et que la composition du liquide initial affecte non seulement le gonflement de la membrane, mais aussi les dimensions des agrégats de nitrocellulose. Cette manière de voir est corroborée par l'expérience suivante : on prépare, en partant de solutions de nitrocellulose, dans des mélanges d'acétone et d'alcool propylique de proportions différentes, deux membranes A et B, en ayant soin d'arrêter l'évaporation au moment de la gélification, et une troisième membrane C à partir de la solution qui a servi pour préparer la membrane A, mais en laissant l'évaporation se poursuivre après la gélification, de manière à ramener le gonflement à un taux voisin de celui de la membrane B. Les résultats des mesures des porosités de ces membranes (tableau I) montrent que le diamètre moyen des pores ($2R$) de la membrane C est bien différent de celui de la membrane B, tandis que le volume total des pores de ces deux membranes est sensiblement le même. Elles ne peuvent donc se différencier que par la distribution spatiale de la substance solide, ou, en d'autres termes, par la grandeur des agrégats de nitrocellulose. Or, il semble que l'unique différence essentielle dans le mécanisme de la formation de ces membranes ne peut être que la composition des systèmes au moment de leur transformation en gel.

Nous avons cherché à obtenir des données expérimentales sur ce point, en faisant des analyses chimiques de gels, suivies de déterminations des porosités des membranes correspondantes. Nous nous sommes adressés à des solutions de nitro-

cellulose dans des mélanges d'alcool propylique et d'acétone qui présentent plus de facilité au point de vue analytique que des systèmes contenant de l'alcool et de l'éther. Or, les variations de la composition des solutions de nitrocellulose dans ces solvants, modifient la porosité et le gonflement des

TABLEAU I.

MEMBRANES

A	B	C
---	---	---

Composition des solutions initiales, en p. 100, en poids :

Nitrocellulose	4	4	4
Alcool propylique. . .	30	20	30
Acétone.	66	76	66

Durée de l'évaporation. Jusqu'à la gélification.

Prolongée au-delà
de la gélification.

G_m	3,8	2,5	2,3
2R (en m μ)	248	68	250

Remarque : Les membranes préparées avec des solutions de cette composition deviennent imperméables à l'eau si l'évaporation a été trop longue; il est probable que l'air entre dans les pores. La perméabilité peut être restaurée si l'on traite la membrane par de l'alcool isobutylique. Dans cette expérience, il n'y avait que la membrane C qui devait être traitée de cette manière, mais pour avoir des résultats bien comparables nous avons fait subir l'action de l'alcool isobutylique aux trois membranes d'une manière identique (ce traitement n'affecte pas la structure).

TABLEAU II.

NUMÉROS DES MEMBRANES

31	32	33
----	----	----

Composition des solutions initiales, en p. 100, en poids :

Nitrocellulose.	4	3,85	4
Alcool éthylique	76	57,5	20
Ether.	20	38,5	76

Rapport $\frac{\text{Ether}}{\text{Alcool}}$	0,26	0,67	3,8
--	------	------	-----

Rapport $\frac{\text{Alcool}}{\text{Nitrocellulose}}$	19	15	5
---	----	----	---

Membranes :

Gonflement G_m	7,3	5,9	3,0
2R (en m μ)	31,4	26,2	13,6

Annales de l'Institut Pasteur, t. 63, n° 2, 1939.

12

membranes dans le même sens que dans les systèmes à l'acétone (tableaux II et III). Il en est d'ailleurs de même pour des systèmes contenant d'autres solvants (tableaux VII et IX).

a) *Analyses chimiques des gels.*

1° TECHNIQUE. — Les membranes ont été préparées en laissant évaporer des solutions de nitrocellulose dans des cellules en verre optiquement plan dans une chambre à évaporation, maintenue à 22°5 [40].

On prépare une solution-stock de nitrocellulose (« Orthonitrocellulose pour ultrafiltration » de la Droguerie Jost, Strasbourg) à 10 p. 100 dans de l'acétone ; à 40 grammes de cette solution-stock, on ajoute les quantités nécessaires d'acétone et d'alcool propylique jusqu'au poids total de 100 grammes. On obtient ainsi une série de solutions à 4 p. 100 de nitrocellulose ayant des proportions différentes d'acétone et d'alcool propylique. Des expériences préliminaires nous ont montré qu'avec cette nitrocellulose, la concentration de 4 p. 100 était la plus convenable. 39 à 40 cent. cubes de ces solutions ont été employés pour faire des membranes de 20 centimètres de diamètre. La cellule à évaporation est couverte par un couvercle (dont la partie supérieure est constituée par du papier-filtre) afin de ralentir l'évaporation. Cette dernière est poursuivie jusqu'à l'opacification, indice de la formation du gel. A ce moment, on découpe rapidement des fragments du gel que l'on place dans des pèse-filtres contenant 25-30 cent. cubes d'eau et ayant été tarés au préalable. On bouche immédiatement les pèse-filtres et on les pèse. Les échantillons de gels prélevés ont été d'environ 2 grammes pour les gels très riches en liquide et de 0 gr. 3 pour les gels pauvres en liquide.

La cellule à évaporation, avec le reste du gel, est plongée dans l'eau aussi vite que possible après le prélèvement de ces échantillons, de manière à obtenir des membranes correspondant aussi exactement que possible aux échantillons du gel prélevé. Sur ces membranes, on détermine l'épaisseur, la teneur en eau et le diamètre moyen des pores, d'après les techniques usuelles [40].

Le contenu des pèse-filtres (liquide et débris de nitrocellulose) est transvasé dans un ballon, après avoir été refroidi dans de la glace afin d'éviter des pertes d'acétone par volatilisation. On rince le pèse-filtre à l'eau distillée, également refroidie, et les eaux de lavage sont versées dans le même ballon jusqu'à un volume total d'environ 100 cent. cubes. On distille cette solution dans un appareil de Schloesing-Aubin en recueillant le distillat dans un ballon-jaugé de 25 cent. cubes. Des expériences préliminaires nous ont montré, en effet, que la totalité de l'acétone est recueillie lorsqu'un quart du volume total est distillé.

On dose l'acétone, sur une partie aliquote du distillat, par la méthode de Fleury et Awad [9] (précipitation par le réactif de Nessler, centrifugation et lavage du précipité, dissolution du précipité, titrage iodométrique). Nous avons choisi cette méthode parce que les résultats des dosages sont exacts, même en présence de grandes quantités d'alcool propylique. Le résidu de distillation restant dans le ballon à distillation contient la totalité des débris du gel ; on les recueille quantitativement

sur un filtre taré en verre fritté d'Iéna ; on les lave soigneusement, on les sèche à 60° d'abord et dans le vide ensuite, et on les pèse. On obtient ainsi le poids de la substance sèche (nitrocellulose) dans l'échantillon du gel qui a servi à la détermination de l'acétone. Les teneurs en alcool propylique + eau sont calculées par différence. Dans chaque expérience, ces déterminations ont été faites sur deux échantillons du gel, et au moins deux dosages d'acétone ont été effectués sur chaque distillat, ce qui fait quatre dosages d'acétone par membrane.

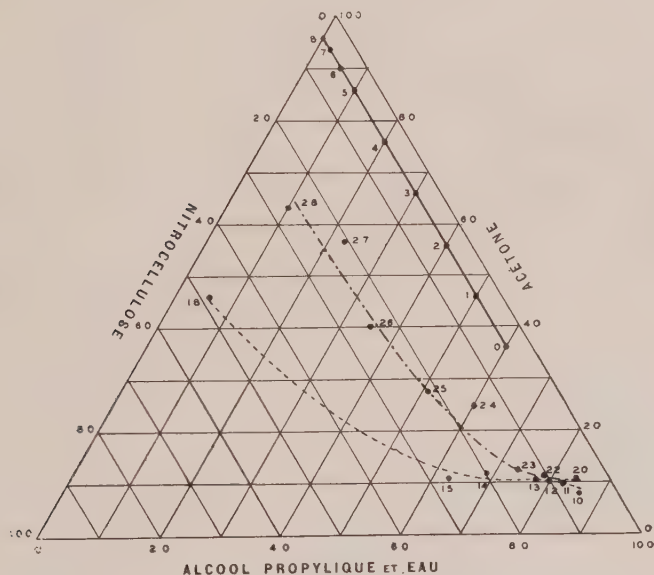


FIG. 1. — Composition des solutions initiales et des gels.

——, solutions initiales; — — —, gels, série 10; - · - · -, gels, série 20.

2° RÉSULTATS. — Nous avons fait des déterminations de ce genre sur deux séries de membranes obtenues en partant de solutions dont les proportions relatives d'acétone et d'alcool propylique variaient progressivement. Dans le tableau III et la figure 1, qui résument nos résultats, les séries ont été numérotées en commençant par 10 et par 20, tandis que les unités désignent les diverses membranes de chaque série et les numéros des solutions initiales correspondantes.

L'erreur expérimentale, qui pourrait paraître assez importante dans ces expériences, n'est pas due aux dosages chimiques qui sont assez exacts, mais à l'évaporation du gel

	NUMÉROS DES				
	10	20	11	12	22
Composition des solutions initiales, en p. 100, en poids :					
Nitrocellulose	4		4		4
Alcool propylique	60		50		40
Acétone	36		46		56
Rapport $\frac{\text{Acétone}}{\text{Alcool propylique}}$	0,6		0,9		1,4
Rapport $\frac{\text{Alcool propylique}}{\text{Nitrocellulose}}$	15		12,5		10
Temps d'évaporation, en minutes.	130	120	170	220	180
Humidité atmosphérique relative.	60	43	59	52	49
Composition du gel, en p. 100, en poids :					
Nitrocellulose	6,55	5,45	7,65	10,15	10,5
Alcool propylique + eau	85,75	84,2	82,15	79,75	78,5
Acétone	7,7	10,35	10,2	10,1	11,0
Gonflement du gel : G_g	14,4	17,3	12,1	8,8	8,5
Membranes :					
Epaisseur, en centimètres	0,035	0,035	0,024	0,018	0,017
2R, en mu	4.630	2.980	2.820	1.520	724
Gonflement : G_m	6,4	6,8	5,9	4,1	4,3
Substances sèches par centimètre carré, en gramme : P_n	0,00360	0,00405	0,00396	0,00405	0,00450

pendant le prélèvement des échantillons et à des différences dans les conditions de l'évaporation, certaines de ces dernières étant difficiles à maintenir constantes (2). De ce fait, le temps nécessaire à la transformation en gel pouvait varier, et nous n'avons pas pu faire tous les prélèvements au moment précis de la gélification.

Malgré les écarts dans les valeurs trouvées dans certains cas, un fait semble se dégager de ces expériences : au fur et à mesure que la teneur en acétone de la solution initiale est augmentée, la teneur en acétone du gel croît, tandis que le gonflement du gel diminue. Ce dernier point confirme les observations antérieures, nous y reviendrons par la suite.

(2) Telles que : l'humidité atmosphérique, impuretés occasionnelles dans les solvants, composition de la nitrocellulose, âge de la solution de nitrocellulose.

MEMBRANES

13	23	14	24	15	25	26	27	18	28
4		4		4		4	4	4	
30		20		10		6	2	0	
66		76		86		90	94	96	
2,2		3,8		8,6		15	47		
7,5		5		2,5		1,5	0,5	0	
190	210	245	195	205	165	155	135	145	140
52	65	47	60	45	52	56	59	47	55
12,3	13,3	19,9	16,0	26,35	21,4	24,3	20,3	48,4	27,4
77,3	74,1	68,7	61,3	63,0	49,3	35,5	22,7	5,5	10,5
10,4	12,6	11,4	22,7	10,65	29,3	40,2	57,0	46,1	62,1
7,5	6,5	4,0	5,2	2,5	3,7	3,1	4,0	1,1	2,7
0,012	0,012	0,009	0,007	0,008	0,004	0,004	0,004	0,003	0,0035
420	375	46,3	3,2	9,7	1,7	2,2	1,6	Imperm.	Imperm.
2,6	2 65	1,47	1,47	1,65	0,75	0,4	0,5	0,2	0,25
0,00394	0,00436	0,00454	0,00404	0,00342	0,00391	0,00423	0,00400	0,00420	0,00417

En ce qui concerne la teneur du gel en acétone, nous avons cherché à exprimer les résultats d'une manière plus nette en fonction de la composition du liquide initial. La teneur en nitrocellulose des solutions initiales étant constante, leur composition peut être définie par le pourcentage d'un des composants liquides, par exemple celui de l'acétone. Pour les gels, qui sont aussi des mélanges ternaires, mais où les proportions des trois composants varient, nous avons pris comme fonction de leur composition, leur teneur en acétone pour 100 parties d'alcool propylique. Ces données (tableau IV) montrent d'une manière très nette l'accroissement de la teneur des gels en acétone, en fonction de la teneur en ce corps des solutions initiales. Et ceci dans les deux séries d'expériences, bien que les nombres ne concordent point entre les deux séries. Nous avons pu nous rendre compte par le calcul, que l'accroisse-

ment observé des teneurs en acétone dans les gels n'est pas dû au hasard, puisqu'il dépasse de beaucoup l'erreur probable.

TABLEAU IV.

Teneur des solutions initiales en acétone, en p. 100, en poids	36	46	56	66	76	86
Teneur des gels en acétone (p. 100 d'alcool propylique), série 10	9,0	12,4	12,6	14,2	16,6	17,0
Teneur des gels en acétone (p. 100 d'alcool propylique) série 20.	12,3	»	14,0	17,0	37,0	59,3

Nous pouvons donc conclure que l'augmentation du rapport

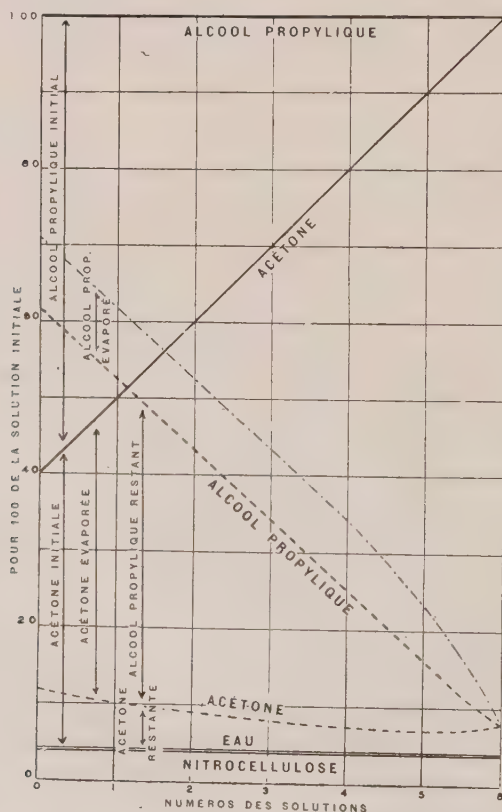


FIG. 2. — Teneurs en acétone, alcool propylique, nitrocellulose et eau des solutions initiales ——— et des gels ———, en p. 100 des solutions initiales; ———, alcool propylique évaporé. Les teneurs en nitrocellulose et en eau ont été considérées comme constantes.

solvant/gélifiant dans la solution initiale augmente la proportion du solvant dans le liquide qui imbibé le gel.

Nous avons inclus dans le tableau III et la figure 4 les résultats d'expériences faites avec des solutions de nitrocellulose dans de l'acétone seule. Ces membranes, bien qu'opaques, ne sont pas perméables dans des conditions usuelles. Ces expériences présentent néanmoins quelque intérêt, puisqu'elles permettent de se rendre compte de la teneur en eau des gels. En effet, la somme des teneurs en acétone et en nitrocellulose est inférieure à 100 dans les deux séries d'expériences. Cette différence ne peut être due qu'à l'eau provenant

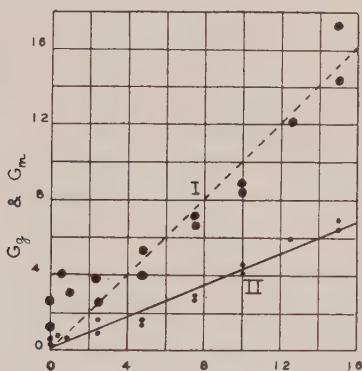


FIG. 3. — Gonflement des gels G_g (I) et des membranes G_m (II) en fonction du rapport gélifiant/nitrocellulose dans les solutions initiales correspondantes.

du solvant et de l'atmosphère, et sa teneur, 5-10 p. 100 du poids du gel, donne une idée de la quantité d'eau pouvant être fixée par les autres gels. Ces teneurs correspondent à moins de 1 p. 100 du poids des solutions initiales.

La figure 2 représente graphiquement les quantités (en pour 100 des solutions initiales) d'acétone et d'alcool propylique évaporées et restant dans les gels. Ces nombres ont été calculés à partir des valeurs de G_g , la quantité de nitrocellulose étant la même dans les deux cas.

b) Le gonflement des gels et des membranes.

La figure 3 montre que le rapport gélifiant/nitrocellulose dans les solutions initiales est pratiquement égal au gonfle-

ment des gels au moment de leur formation (droite I). La relation linéaire subsiste, mais à un autre niveau, pour les membranes lavées (droite II). On peut se rendre compte de l'importance de la contraction que subissent les gels lorsque les solvants sont remplacés par l'eau (durcissement des gels) en comparant les valeurs de G_g et G_m des mêmes membranes.

*c) Gonflement et porosité de membranes préparées
par des méthodes différentes.*

Le gonflement des membranes présente un intérêt particulier dans l'étude de la perméabilité des membranes, puisqu'il donne une indication sur le volume occupé par les pores. Nous avons pu nous rendre compte que des membranes ayant un gonflement semblable, mais possédant des porosités différentes, se distinguent par les dimensions des agrégats de nitrocellulose dont elles sont constituées [13]. Si, par contre, on avait des membranes de porosités différentes formées par des agrégats de nitrocellulose de dimensions identiques, on peut prévoir que leur porosité dépendra de leur gonflement.

Supposons, comme nous l'avons déjà fait auparavant, que c'est au moment de la gélification du système que les dimensions des agrégats sont fixées. Une évaporation prolongée au delà de ce moment n'aura pour effet que de réduire le gonflement de la membrane, effet comparable à un « rétrécissement de mailles », et le diamètre de chaque interstice décroîtra proportionnellement à la diminution de la phase liquide. Pour vérifier notre hypothèse nous nous sommes adressés aux résultats expérimentaux publiés par Pierce [16]. Cet auteur a préparé des membranes en partant d'une seule et même solution de nitrocellulose et ne faisait varier que le temps d'évaporation pour obtenir des membranes de porosités différentes. Nous avons pu nous rendre compte, en recalculant les données de Pierce de manière à les rendre comparables aux nôtres, que notre supposition se trouve vérifiée, puisque dans ce cas la porosité des membranes est une fonction simple du gonflement.

Si, par contre, on s'adresse aux résultats que nous avons obtenus avec des solutions acétoniques de composition variable,

ou à ceux d'Eggerth [3] se rapportant à des membranes préparées en faisant varier la composition d'un collodion à l'alcool-éther, il est facile de constater que la relation entre la porosité et le gonflement n'est pas simple. Dans ce cas ce sont donc les dimensions des agrégats de nitrocellulose qui varient.

Il nous paraît tout naturel d'admettre que les dimensions des agrégats de nitrocellulose dépendent de la teneur en solvant du système au moment de sa transformation en gel. En effet, la quantité de nitrocellulose dans ce dernier étant constante, l'état de dispersion de la nitrocellulose dépend de la proportion du solvant présent : plus il y a de solvant, plus les agrégats seront petits. Or, comme nous l'avons vu, la teneur du gel en solvant croît lorsque l'on augmente le rapport solvant/gélifiant de la solution initiale. Il s'ensuit que l'augmentation de ce rapport aura pour effet de donner des membranes constituées par des agrégats de nitrocellulose plus petits. Ce fait doit se traduire par une diminution de la porosité et l'expérience montre que c'est effectivement le cas.

En résumé, de tout ce qui a été dit dans ce chapitre, nous croyons pouvoir dégager les renseignements suivants :

La structure des membranes en nitrocellulose obtenues par évaporation dépend surtout de la composition du système au moment de la gélification, qui à son tour est fonction de la composition du liquide initial. Le rapport gélifiant/nitrocellulose dans la solution initiale conditionne le gonflement du gel et, partant, des membranes. Tandis que du rapport solvant/gélifiant dans la solution initiale dépend la teneur en solvant du gel au moment de sa formation, teneur qui, à son tour, conditionne les dimensions des agrégats de nitrocellulose.

Les différences dans les porosités de membranes obtenues par l'évaporation de solutions de composition différente ne peuvent s'expliquer uniquement par la variation du volume occupé par les pores. La porosité d'une membrane dépend de son gonflement et des dimensions des agrégats de nitrocellulose dont elle est composée.

Nous pensons que les conclusions auxquelles nous sommes arrivés en étudiant un nombre restreint de systèmes doivent être valables pour

d'autres systèmes où la substance solide est la nitrocellulose et, peut-être, même à d'autres cas qui fournissent des gels par évaporation.

On pourrait probablement obtenir des membranes de diverses porosités en cellulose par une technique dérivée de celle d'Ettisch et Hellriegel [7], en faisant varier les proportions d'ammoniaque, de sulfate de cuivre et d'eau dans la liqueur de Schweizer.

Dans nos expériences, la teneur en nitrocellulose a été maintenue constante ; une variation des dimensions des agrégats de nitrocellulose pourrait être obtenue aussi en faisant varier la teneur en nitrocellulose, en employant, par exemple, 10 cent. cubes d'une solution à 4 p. 100 ou 20 cent. cubes d'une solution à 2 p. 100 de nitrocellulose dans le même mélange de solvants. Dans des systèmes autres que le collodion, et où la solubilité serait limitée à une faible marge de variation des rapports solvant/gélifiant, la modification de la proportion de la substance solide serait le meilleur moyen pour faire varier la porosité.

CHAPITRE II

Rôle des divers solvants organiques dans la préparation des membranes.

Dans le chapitre précédent, nous avons indiqué que non seulement la quantité de solvant présent dans le gel au moment de sa formation, mais aussi sa nature jouait un rôle important dans l'obtention de membranes de diverses porosités. Il suffit de comparer des membranes préparées avec des solutions dont seuls les solvants sont différents (par exemple éther et acétone) : l'une sera transparente et peu poreuse, l'autre opaque et très poreuse.

Le stade suivant dans notre tentative de diminuer l'empirisme dans la préparation de membranes sera donc une classification des principaux solvants organiques usuels d'après leur action sur les propriétés des membranes (3). Nos expériences nous ont montré que l'on peut les diviser en cinq groupes plus ou moins nettement délimités.

(3) Divers auteurs [8, 10, 15] ont publié des données sur l'action de divers solvants ajoutés à un collodion à l'alcool-éther, mais, à notre connaissance, on n'a pas essayé d'établir une classification de solvants basée sur des mesures de membranes obtenues à partir de systèmes simples autres que le collodion à l'alcool-éther.

Ce sont :

A. Solvants de la nitrocellulose : 1° Solvants « parfaits » ; 2° solvants « gonflants ».

B: Non solvants de la nitrocellulose : 1° « Gélifiants » ; 2° « précipitants imparfaits » ; 3° « précipitants parfaits ».

Cette division n'a, bien entendu, rien d'absolu, et il existe des corps ayant des propriétés intermédiaires.

A. — SOLVANTS DE LA NITROCELLULOSE.

La définition de ce groupe a été déjà donnée (p. 160). De nombreux solvants organiques dissolvent la nitrocellulose, mais l'exemple de l'acétone et de l'éther, cité ci-dessus, montre

TABLEAU V.

PROPRIÉTÉ	SOLVANTS PARFAITS	SOLVANTS GONFLANTS
1. Porosité des membranes (1).	Faible ($2R < 100 \text{ m}\mu$).	Forte ($2R > 100 \text{ m}\mu$).
2. Aspect d'un film obtenu par l'évaporation à l'air libre d'une solution de nitrocellulose dans le solvant seul.	Transparent.	Blanc, opaque.
3. Dissolution d'un petit tampon lâche de fibres de nitrocellulose dans le solvant pur.	Dissolution graduelle sans déformation préalable des fibres; comportement comparable à un cristal de sel dans l'eau.	Le tampon est déformé et est transformé en une sorte de gel qui se dissout ensuite lentement; comportement comparable à la gélatine dans l'eau chaude.
4. Comportement d'un petit tampon lâche, de fibres de nitrocellulose exposé à l'action des vapeurs du solvant à la température du laboratoire.	Pas de changements.	Gonflement des fibres, suivi de liquéfaction.

(1) En prenant, pour faire la comparaison, des solutions ayant la même teneur en nitrocellulose et en gélifiant (par exemple : 30 p. 100 d'alcool propylique).

que certains solvants se distinguent des autres par la structure des membranes qu'ils conditionnent. Nous avons trouvé que l'on peut distinguer deux sortes de solvants, en basant cette distinction sur les quelques caractéristiques, résumées dans le tableau V, dans l'ordre décroissant de leur importance. Nous

avons dénommé le premier groupe de solvants « les solvants parfaits », puisque nous croyons que la nitrocellulose peut y être plus complètement dispersée que dans le deuxième groupe, que nous appelons « solvants gonflants » (cette dénomination étant choisie d'après leur caractéristique 3 du tableau V, ne veut pas dire que les liquides de ce groupe sont moins bons solvants de la nitrocellulose que ceux du premier groupe).

1° SOLVANTS PARFAITS. — Du point de vue de leur usage, en pratique ces solvants peuvent être partagés en deux sous-groupes :

a) Ceux dont le point d'ébullition est inférieur à 80° peuvent être employés, dans la fabrication des membranes, comme solvants pour la préparation des solutions initiales de nitrocellulose, lorsque l'on utilise un gélifiant ayant un point d'ébullition plus élevé.

L'éther (en présence d'alcool) a été le solvant le plus courant; il est un des composants principaux du collodion ordinaire et des solutions employées dans la préparation des membranes Gradocol d'Elford. Mais son évaporation étant trop rapide nous évitons son emploi, pour les raisons indiquées plus haut (p. 462). L'alcool méthylique est trop toxique pour pouvoir être choisi comme solvant.

TABLEAU VI. — **Solvants parfaits.**

	P. E. en degrés
Ether éthylique (en présence d'alcool)	36
Formiate d'éthyle	54,4
Alcool méthylique	64,6
Acétate d'éthyle	77
Propionate de méthyle	79,9
Dioxane	101,5
Acide acétique	118
Ether monoéthylique du glycol.	135
Acétate d'amyle	148
Cyclohexanone.	156

Parmi les produits que nous avons essayés et qui figurent sur le tableau VI, il ne reste donc que le formiate et l'acétate d'éthyle. Ces deux solvants, utilisés avec des proportions

TABLEAU VII.

	NUMÉROS DES MEMBRANES							
	40 a	40 b	41	42 a	42 b	43	44	45
Composition des solutions initiales, en p. 100, en poids :								
Nitrocellulose		4	4	4		4	4	4
Alcool propylique	60		50	40		30	20	0
Acétate d'éthyle	36		46	56		66	76	96
Rapport $\frac{\text{Acétate d'éthyle}}{\text{Alcool propylique}}$. . .		0,6	0,9	1,4		2,2	3,8	
Rapport $\frac{\text{Alcool propylique}}{\text{Nitrocellulose}}$. . .		15	12,5	10		7,5	5	
Humidité atmosphérique relative (Lambrecht)	68	57	65	72	67	65	55	59
Membranes :								
Épaisseur, en centimètres	0,043	0,034	0,029	0,020	0,018	0,0055	0,005	0,004
Gonflement : G_m	9,7	8,2	6,2	4,6	3,1	0,55	0,4	0,2
R, en μ	67	54	45	37	27	6,5	2,0	Imperm.

variables d'alcool propylique comme gélifiant, nous ont donné des séries d'excellentes membranes dépourvues de « structures polygonales ». Une série de membranes, obtenue avec de l'acétate d'éthyle, est reproduite dans le tableau VII.

b) Les solvants parfaits moins volatils (P. E. supérieur à 80°), additionnés même en petite quantité, à des solutions contenant un solvant gonflant abaissent la porosité des membranes. Cet effet correspond à celui produit par une augmentation de la proportion en solvant d'une solution initiale ; les solvants de ce groupe restent entièrement dans le gel, puisque peu volatils, c'est pourquoi même une petite quantité de ces solvants a une action très prononcée. Nous avons obtenu de bons résultats en employant l'éther monoéthylique du glycol (v. tableau XIV) dont l'usage a été déjà préconisé [6, 10].

2° SOLVANTS GONFLANTS. — Parmi les liquides organiques que nous avons étudiés, la plupart de ceux que nous classons comme solvants parfaits ont des P. E. assez élevés, tandis que les solvants gonflants caractéristiques ont en général des P. E.

inférieurs à 56°, le P. E. de l'acétone (v. tableau VIII). Ils sont trop volatils pour donner des membranes homogènes dans les conditions que nous avons choisies.

TABLEAU VIII. — Solvants gonflants.

	P. E. en degrés
Acétaldéhyde	21
Formiate de méthyle	31,5
Méthylal	44
Acétone	56,4
Acétate de méthyle	57,1
Butanone	79,6

Les deux derniers solvants ont des propriétés qui les rapprochent des solvants parfaits.

Le représentant le plus caractéristique de ce groupe de solvants est l'acétone. Son emploi pour la préparation de membranes a été étudié dans le premier chapitre (tableau III). L'acétate de méthyle (ainsi que la butanone) donne des membranes dont la porosité est inférieure à celle résultant de l'emploi de l'acétone (tableau IX). On obtient facilement des

TABLEAU IX.

	NUMÉROS DES MEMBRANES				
	50	51	52	53	54
Composition des solutions initiales, en p. 100, en poids :					
Nitrocellulose	4	4	4	4	4
Alcool propylique	60	50	40	30	20
Acétate de méthyle	36	46	56	66	76
Rapport $\frac{\text{Acétate de méthyle}}{\text{Alcool propylique}}$. . .	0,6	0,9	1,4	2,2	3,8
Rapport $\frac{\text{Alcool propylique}}{\text{Nitrocellulose}}$. . .	15	12,5	10	7,5	5
Humidité atmosphérique relative (Lambrecht).	63	66	63	61	65
Membranes :					
Epaisseur, en centimètres	0,062	0,043	0,031	0,028	0,019
Gonflement : G _m	15,2	11,5	8,5	6,1	3,6
2R, en mp.	110	76,9	62,5	49,0	38,6

séries de bonnes membranes, mais il semble que les résultats sont moins bien reproductibles. Nous croyons que ce fait est dû à l'hydrolyse de l'acétate de méthyle soit pendant l'évaporation, soit pendant la conservation des solutions.

L'humidité de l'air semble avoir une action plus prononcée sur la porosité des membranes faites avec des solvants gonflants qu'avec des solvants parfaits. Il est possible que les différences entre les résultats obtenus avec ces deux groupes soient dues, au moins en partie, à leur plus ou moins grande facilité d'hydratation.

B. — NON SOLVANTS DE LA NITROCELLULOSE.

1° GÉLIFIANTS (v. définition p. 460). — Parmi les liquides organiques usuels, et pour des nitrocelluloses moyennement nitrées, il n'y a que deux gélifiants : l'alcool éthylique (P. E. = 79°) et l'alcool propylique normal (P. E. = 97°2). L'alcool méthylique est un solvant, tandis que les autres alcools aliphatiques saturés, y compris l'alcool isopropylique, précipitent la nitrocellulose de ses solutions.

Nous n'avons pas observé de différences notables entre les effets produits par l'emploi de l'un ou de l'autre de ces deux alcools, en dehors de ceux dus à la différence de volatilité et ceux dus à la formation de mélanges azéotropes. Nous avons fait figurer dans le tableau X quelques exemples de membranes obtenues à partir de solutions ayant la même teneur en nitrocellulose et en solvant, le gélifiant étant tantôt l'alcool éthylique, tantôt l'alcool propylique (en quantité égale).

Nous préférons l'alcool propylique normal, puisqu'il peut être employé avec un nombre plus grand de solvants et, surtout, puisqu'il est moins volatil que l'alcool éthylique. De ce fait, le danger d'une évaporation excessive est diminué et le gonflement des membranes est plus constant.

2° PRÉCIPITANTS IMPARFAITS. — Nous rangeons dans ce groupe les alcools aliphatiques supérieurs. Ajoutés en assez grande quantité à une solution concentrée de nitrocellulose, ils provoquent la formation d'un précipité léger qui paraît gonflé, comme une sorte de gel. Lorsqu'on ajoute ces alcools à des

TABLEAU X.

SOLVANT	GÉLIFIANT	TENEUR de la solution initiale en gélifiant (p. 100)	2R m μ	G m	REMARQUES
Ether éthylique.	Alcool éthylique.	38	26	5,9	
	Alcool propylique.		25	5,6	
Acétone	Alcool éthylique.	20	6,5	2,0	
	Alcool propylique.		46,3	1,5	
Acétone	Alcool éthylique.	40	—	—	Se contracte violemment dans l'eau. Bonne membrane.
	Alcool propylique.		1.520	4,1	
Acétate d'éthyle.	Alcool éthylique (1).	40	—	—	Se contracte violemment dans l'eau. Bonne membrane.
	Alcool propylique.		37	4,6	

(1) Forme un mélange azéotrope.

solutions de nitrocellulose contenant un solvant et un gélifiant, on obtient par évaporation des gels qui se contractent fortement dans l'eau. On aboutit ainsi à des membranes peu gonflées et très résistantes, mais elles sont probablement moins homogènes, puisque cette contraction est un processus rapide pouvant avoir des effets différents sur diverses parties de la membrane.

TABLEAU XI.

ALCOOLS	VOLUME suffisant pour provoquer la précipitation (v. texte) en cent. cubes	MEMBRANES		
		2R (en m μ)	G m	Remarques
Ethylique. . .	—	31,4	7,3	Bonne membrane.
Isopropylique.	8-10	11,6	2,6	Membrane assez dure.
Butylique. . .	15	6	0,8	Membrane très résistante; froissée par la contraction.
Isobutylique .	6	6	0,9	Membrane très résistante; froissée par la contraction.
Isoamylique .	6	2	0,5	Membrane très résistante; fortement froissée.

Le tableau XI résume quelques-unes de nos observations ; dans la première colonne, nous avons noté le volume de

l'alcool qu'il faut ajouter à 2 cent. cubes d'une solution acétonique concentrée de nitrocellulose pour obtenir un début de précipitation. Les solutions qui ont servi à préparer les membranes contenaient : 4 p. 100 de nitrocellulose, 76 p. 100 d'éther, 10 p. 100 d'alcool éthylique et 10 p. 100 de l'alcool étudié (en poids).

Ces essais nous permettent d'expliquer pourquoi Asheshov [4] et Elford [5] ont obtenu un accroissement de la résistance des membranes et une diminution de leur porosité par l'adjonction de petites quantités d'alcool amylique au collodion : ces effets sont dus, à notre avis, à une plus forte contraction des gels pendant leur durcissement dans l'eau. Nous ne possédons pas de données pour expliquer la forte contraction des gels contenant ces alcools supérieurs, mais il est probable qu'elle peut dépendre de la tension interfaciale eau/alcool employé ; la valeur de cette tension augmente et la solubilité de ces alcools dans l'eau diminue lorsque l'on monte dans la série homologue.

3° PRÉCIPITANTS PARFAITS. — Sous cette dénomination nous groupons les liquides organiques dans lesquels la nitrocellulose est complètement insoluble et dont l'addition, même en faible quantité, précipite cette substance de ses solutions sous forme de flocons lourds, peu gonflés.

Parmi ces liquides, ceux qui sont miscibles avec l'eau (tels que la glycérine, le glycol, etc.) augmentent la porosité des membranes lorsqu'on en ajoute de petites quantités à une solution de nitrocellulose. Mais une addition de quantités plus grandes peut provoquer la formation de précipités de nitrocellulose pendant l'évaporation de la solution et altérer l'homogénéité du gel. Cet effet est analogue à celui produit par l'addition d'eau. Nous croyons qu'il est préférable de ne pas utiliser ces produits dans la préparation de membranes afin d'éviter toute cause pouvant affecter leur homogénéité.

Les précipitants non miscibles à l'eau semblent ne pas présenter d'intérêt dans la préparation de membranes en nitrocellulose.

CHAPITRE III

Principes d'une nouvelle technique de préparation de membranes homogènes de porosité graduée.

Au début de ce travail, nous avons indiqué que les techniques de préparation de membranes de porosité graduée ont les inconvénients suivants : elles sont empiriques, assez compliquées et donnent des membranes qui ne sont pas suffisamment homogènes. Les notions que nous venons d'exposer nous ont permis d'obtenir des membranes plus homogènes et de les préparer d'une façon plus rationnelle.

Nous n'indiquerons ci-dessous que les principes nouveaux ou les modifications introduites dans la technique de préparation des membranes ; les autres parties de la technique sont celles employées précédemment [5, 10] : emploi de cellules en verre optiquement plan, chambre à évaporation, préparation de grandes membranes (de 40 centimètres de diamètre) dans lesquelles on découpe un lot de membranes plus petites (de 3 ou 4 centimètres de diamètre), lavage des membranes jusqu'à élimination des solvants (4) et stérilisation par tyndallisation.

1° HOMOGÉNÉITÉ DES MEMBRANES.

On peut supprimer les « structures polygonales macroscopiques » qui sont dues aux tourbillons de Bénard et qui, à notre avis, conditionnent la dispersion dans la grandeur des diamètres des pores, en évitant l'emploi de solvants trop volatils, en choisissant des solutions de nitrocellulose de viscosité convenable et, surtout, en ralentissant l'évaporation par des moyens mécaniques [couvercle] (5). Nous obtenons de bons

(4) Remarquons, à ce sujet, que dans les systèmes que nous avons étudiés, les solvants employés sont presque tous très solubles dans l'eau, ce qui permet de raccourcir le temps de lavage des membranes.

(5) Il est nécessaire, également, de laisser la solution à évaporer s'étaler d'une manière uniforme dans la cellule à évaporation avant le début

résultats en ralentissant l'évaporation de manière à ce que la gélification ne se produise qu'après quinze ou vingt heures d'évaporation. On arrête cette dernière une fois que le gel est bien formé, en plongeant la cellule à évaporation avec le gel dans l'eau (selon la manière habituelle).

Il faut, par ailleurs, transformer le gel en membrane sans déformer la régularité de sa structure et, par conséquent, diminuer, dans la mesure du possible, la contraction du gel pendant son durcissement par l'eau. Comme nous l'avons montré, le gonflement de la membrane est bien inférieur à celui du gel (fig. 3) et cette contraction nous paraît inévitable, mais nous pensons qu'il est préférable de ne pas employer, dans la préparation des membranes, de liquides tels que l'alcool amylique, qui provoquent une forte contraction du gel.

2° COMPOSITION DES SOLUTIONS DE NITROCELLULOSE

Nous croyons avoir démontré que les diverses porosités sont conditionnées par les dimensions des agrégats de nitrocellulose à l'intérieur des membranes et que ces dimensions dépendent de la nature du solvant employé, ainsi que de la quantité de ce solvant présente dans le système au moment de la gélification.

Il s'agit donc de choisir des systèmes aussi simples que possible pouvant donner des membranes de toutes les porosités allant depuis quelques millimicrons jusqu'à plusieurs microns. Les systèmes les plus simples possibles sont des systèmes ternaires ; nous en avons étudié un certain nombre, ils contiennent tous de la nitrocellulose, un gélifiant et un solvant. Pour les raisons déjà indiquées, nous avons utilisé l'alcool propylique comme gélifiant dans tous nos systèmes. Le solvant est donc l'unique composant variable. Le tableau XII indique

de l'évaporation. A cet effet, après avoir versé la solution dans la cellule, nous la laissons recouverte par une plaque en verre pendant au moins une heure.

Par ailleurs, il n'est peut être pas inutile d'insister sur l'importance qu'il y a à mettre la cellule à évaporation très soigneusement à niveau, car l'homogénéité du lot de membranes dépend surtout de l'uniformité de l'épaisseur de la grande membrane.

TABLEAU XII.

SOLVANTS	GÉLIFIANT	ORDRE DE GRANDEUR des porosités, en $m\mu$
Acétate d'éthyle.	Alcool propylique.	0 à 60.
Formiate d'éthyle.	Alcool propylique.	0 à 100.
Acétate de méthyle.	Alcool propylique.	30 à 250.
Butanone.	Alcool propylique.	100 à 1.000 (encore peu étudié).
Acétone.	Alcool propylique.	200 à 3.000.

l'ordre de grandeur des porosités susceptibles d'être obtenues avec les divers solvants étudiés.

3° VARIATION DES POROSITÉS.

En partant de ces systèmes ternaires simples, on peut obtenir, par diverses techniques, des membranes de porosité graduée. Nous avons étudié les trois procédés suivants :

a) VARIATION DU RAPPORT SOLVANT/GÉLIFIANT DANS LES SOLUTIONS DE NITROCELLULOSE. — Ce procédé est simple et permet d'obtenir des résultats assez constants. Les séries de membranes indiquées dans les tableaux III, VII et IX ont été obtenues de cette manière. Mais les variations de porosité, dans chaque série, vont de pair avec des différences dans le gonflement des membranes et donc dans leur épaisseur, à poids égal de nitrocellulose.

Comme il ressort du tableau III, on pourrait obtenir toute la gamme de porosités en utilisant le système à l'acétone. Mais les membranes ayant un faible gonflement sont moins convenables et nous conseillons d'employer, par exemple, le système à l'acétone pour faire des membranes très poreuses, le système à l'acétate de méthyle pour obtenir des porosités moyennes et celui à l'acétate d'éthyle (ou au formiate d'éthyle) pour préparer des membranes peu poreuses.

b) MÉLANGE DE DEUX SOLUTIONS-MÈRES. — Pour obtenir des membranes de diverses porosités ayant toutes un gonflement similaire, on peut procéder de la manière suivante. On prépare deux solutions-mères ayant la même teneur en nitrocellulose,

TABLEAU XIII.

SOLUTIONS p. 100	2 R (en m μ)	G _m	REMARQUES
B seule . . .	22,8	4,5	} La grande différence entre les porosités de ces deux membranes est due surtout à une forte différence dans l'humidité atmosphérique.
50 B + 50 A. .	31,6	5,0	
20 B + 80 A. .	54,5	5,3	
10 B + 90 A. .	682	4,4	
4 B + 96 A. .	729	4,7	
Solution A : nitrocellulose, 4 p. 100; alcool propylique, 30 p. 100; acétone, 66 p. 100. Solution B : nitrocellulose, 4 p. 100; alcool propylique, 30 p. 100; formiate d'éthyle, 66 p. 100.			

en gélifiant (alcool propylique) et en solvant, mais dont l'une contient un solvant parfait et l'autre un solvant gonflant. En mélangeant ces deux solutions dans des proportions différentes, on doit obtenir toutes les porosités intermédiaires. Pour cela, il faudrait trouver deux solvants de type opposé, mais ayant des tensions de vapeurs très voisines. Nous n'avons pas encore trouvé un système idéal de ce genre, mais des essais faits avec des solutions contenant l'une de l'acétone (A) et l'autre du formiate d'éthyle (B) nous ont donné des résultats encourageants (tableau XIII). Les solutions contenaient : 4 p. 100 de nitrocellulose, 30 p. 100 d'alcool propylique et 66 p. 100 de solvant.

c) ADDITION D'UN SOLVANT PEU VOLATIL. — On peut modifier la porosité d'une membrane en ajoutant à la solution initiale des petites quantités variables d'un solvant peu volatil et du type opposé par rapport au solvant de base du système ternaire initial. Comme nous l'avons déjà indiqué, on peut réaliser facilement de telles modifications en partant d'un système contenant un solvant gonflant, il suffit d'y ajouter un peu de solvant parfait de P. E. assez élevé (par exemple d'éther mono-éthylique du glycol, tableau XIV) ; on obtient ainsi une diminution de la porosité.

L'inverse est plus difficile à obtenir en pratique, puisque nous ne possédons pas de solvant gonflant peu volatil. Nous avons pu néanmoins réaliser une expérience de ce genre en

ajoutant de faibles quantités d'acétone ou d'acétate de méthyle à une solution contenant de l'éther comme solvant parfait de base. Un système de ce genre ne présentant pas d'intérêt pratique (à cause de l'éther), cette expérience n'était faite que pour démontrer l'exactitude de notre manière de voir. Les résultats expérimentaux, résumés dans le tableau XIV, confirment nos prévisions.

TABLEAU XIV.

COMPOSITION des solutions initiales p. 100, en poids	SOLVANT AJOUTÉ p. 100, en poids	2 R en m ²	G _m
Nitrocellulose 4	Sans adjonction.	3,350	4,6
Alcool propylique 40			
Acétone 56			
La même			
La même	Ether monoéthylique du glycol : 3.	98	7,4
La même	Ether monoéthylique du glycol : 5.	68	7,5
Nitrocellulose 4	Sans adjonction.	9,8	2,4
Alcool éthylique 20			
Ether éthylique 77 (ou 66).			
La même			
La même	Acétone : 10.	21,4	2,9
La même	Acétate de méthyle : 10.	121	3,6

Ce procédé présente un inconvénient d'ordre pratique : d'une manière générale, il suffit d'ajouter très peu de solvant peu volatil pour obtenir un effet considérable et il est difficile de produire des variations de faible intensité.

Notons que c'est sur ce procédé qu'est basée l'obtention de variations des porosités dans la préparation des membranes Gradocol d'Elford.

4° REPRODUCTIBILITÉ.

Pour arriver à reproduire une membrane d'une porosité définie, il faut opérer d'une manière absolument identique : même composition et âge de la solution, même pureté des produits et mêmes conditions d'évaporation. Ce dernier point présente des difficultés. Nous faisons les évaporations dans une chambre d'environ 20 mètres cubes dépourvue de courants d'air et maintenue à une température constante (22°3). Mais ces précautions ne sont pas suffisantes, il faudrait également

maintenir l'humidité à un niveau constant, ce qui nécessite une installation spéciale assez coûteuse. Nous nous limitons à contrôler l'humidité atmosphérique et nous ne fabriquons pas de membranes quand elle est trop élevée (6).

Si l'on ne cherche pas à obtenir de résultats reproductibles, mais si l'on veut simplement préparer des membranes de diverses porosités, on peut même se passer d'une chambre à température constante. Il faut alors éviter des changements brusques de température, protéger la cellule à évaporation des courants d'air et la couvrir avec un couvercle bien adapté.

Résumé.

L'étude de la gélification des solutions de nitrocellulose dans un mélange de deux liquides et l'établissement d'une classification des divers liquides organiques usuels d'après l'action qu'ils exercent au cours de la préparation des membranes ultrafiltrantes, nous ont permis de formuler les conclusions suivantes :

1° La structure des membranes en nitrocellulose, obtenues par évaporation, dépend surtout de la composition du système au moment de la gélification.

2° Les différences dans les porosités de membranes obtenues par l'évaporation de solutions de composition différente sont supérieures à celles que l'on aurait pu expliquer par la seule variation du volume occupé par les pores.

La porosité d'une membrane dépend : a) de son « gonflement » (rapport liquide/solide) ; b) des dimensions des agrégats de nitrocellulose.

a) Le gonflement du gel est pratiquement égal au rapport gélifiant/nitrocellulose dans la solution initiale ; le gonflement de la membrane lavée est proportionnel au gonflement du gel.

b) Les dimensions des agrégats de nitrocellulose dépendent

(6) Il est en effet difficile d'obtenir de bonnes membranes (surtout de porosité élevée) lorsque l'humidité dépasse 60 (Lambrecht). On peut y remédier, dans une certaine mesure, en ajoutant à la solution initiale de très petites quantités (inférieures généralement à 1 p. 100) d'acide acétique ou trichloracétique

de la nature et de la proportion du solvant présent dans le système au moment de la gélification. Cette proportion est fonction du rapport solvant/gélifiant dans la solution initiale.

3° On peut préparer des membranes ultrafiltrantes en partant de systèmes ternaires : nitrocellulose, gélifiant et solvant, dont on peut ne faire varier que le solvant. L'alcool propylique a été choisi comme gélifiant pour tous les systèmes. L'emploi de l'acétone, de l'acétate d'éthyle et de l'acétate de méthyle en qualité de solvants permet de couvrir toute la gamme des porosités.

4° Les porosités intermédiaires peuvent être obtenues soit en faisant varier le rapport solvant/gélifiant des solutions initiales, soit en faisant des mélanges en proportions différentes de deux solutions-mères contenant des solvants des deux types opposés (solvants parfaits et solvants gonflants), soit en ajoutant un solvant parfait peu volatil à un système dont le solvant est un solvant gonflant.

5° Des membranes homogènes dépourvues de « structures polygonales macroscopiques » ont été obtenues en évitant l'emploi de solvants trop volatils et, surtout, en diminuant la vitesse de l'évaporation par des moyens mécaniques

Une partie des expériences a été faite à l'Institut de Chimie biologique de la Faculté de Médecine de Strasbourg. Nous tenons à remercier le professeur M. Nicloux, directeur de cet Institut, de sa bienveillance à notre égard.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ASHESHOV (I. N.). *C. R. Soc. Biol.*, **92**, 1925, p. 362.
- [2] BÉNARD, cité par G. Jander et J. Zakowski. *Membranfilter, Cell- und Ultrafeinfilter*, Leipzig, 1929.
- [3] EGGERTH (A. H.). *J. Biol. Chem.*, **48**, 1921, p. 203.
- [4] ELFORD (W. J.). *Proc. Roy. Soc. B.*, **106**, 1930, p. 216.
- [5] ELFORD (W. J.). *Journ. Path. Bacter.*, **34**, 1931, p. 505.
- [6] ELFORD (W. J.), GRABAR (P.) et FERRY (J. D.). *Brit. J. Exper. Path.*, **16**, 1935, p. 583.
- [7] ETTISCH (G.) et HELLRIEGEL (E.). *Biochem. Ztschr.*, **248**, 1932, p. 65.
- [8] FERRY (J. D.). *Chem. Rev.*, **18**, 1936, p. 373.
- [9] FLEURY (P.) et AWAD (Y.). *Bull. Soc. Chim. biol.*, **8**, 1926, p. 550.
- [10] GRABAR (P.). *Bull. Soc. Chim. biol.*, **17**, 1935, p. 965.

- [11] GRABAR (P.). *Bull. Soc. Chim. biol.*, **17**, 1935, p. 1245.
- [12] GRABAR (P.). *Cold Spring Harbor Symposia on quant. Biol.*, **6**, 1938, p. 252.
- [13] GRABAR (P.) et DE LOUREIRO (J. A.). *J. Chim. Phys.*, **33**, 1936, p. 815.
- [14] GRABAR (P.) et NIKITINE (S.). *J. Chim. Phys.*, **33**, 1936, p. 721.
- [15] NOWATKE (W.). *Thèse de doctorat*. Université de Poznan, Pologne, 1935.
- [16] PIERCE (H. F.). *J. Biol. Chem.*, **75**, 1927, p. 795.

RÉACTIONS PULMONAIRES DANS L'ANAPHYLAXIE

par A. GARIPUY.

(*Laboratoire d'anatomie pathologique
de la Faculté de Médecine de Toulouse. Professeur Jean TAPIE.*)

Les lésions anatomiques observées à la suite du choc anaphylactique mortel ont fait l'objet de nombreux travaux ; tous les auteurs insistent sur les troubles vasomoteurs, en particulier sur les lésions du type congestif ou hémorragique consécutives au choc anaphylactique et traduisant un déséquilibre neuro-humoral profond. Si l'animal survit au choc, il est classique d'admettre que tout rentre dans l'ordre au point de vue morphologique et que les lésions sont essentiellement fugaces.

Certains auteurs ont cependant étudié les altérations anatomiques consécutives à des chocs anaphylactiques répétés, mais les conclusions auxquelles ils ont abouti sont souvent contradictoires. Il nous a paru intéressant de reprendre cette étude en répétant les injections déchaînantes et en gardant les animaux en expérience pendant une période suffisante (quatre à sept mois suivant les cas). Nous pensions, en opérant ainsi, pouvoir mettre en évidence non tant les lésions plus ou moins fugaces du choc anaphylactique que les altérations plus permanentes des divers organes et tissus (en particulier du tissu mésenchymateux) témoins de l'existence de l'état anaphylactique.

Les résultats d'ensemble de ces recherches ont été consignés dans notre thèse ; nous n'en parlerons pas ici. Dans ce travail ne seront envisagées que les *lésions pulmonaires consécutives à des chocs anaphylactiques répétés* chez des animaux ayant été gardés en expérience pendant quatre à sept mois.

TECHNIQUE EXPÉRIMENTALE SUIVIE. — Toutes les recherches ont été effectuées sur le lapin adulte ; l'antigène utilisé a été, dans tous les cas, le sérum de cheval (sérum antidiphtérique de l'Institut Pasteur). La sensibilisation des lapins a été pratiquée chez tous les animaux de la même manière : deux à quatre injections sous-cutanées de 5 cent. cubes de sérum, à quatre jours d'intervalle. Dix ou quinze jours après la dernière injection préparante, nous avons commencé les injections déchainantes qui furent répétées jusqu'à dix reprises à des intervalles variant de dix à quinze jours.

A la suite de ce traitement, l'animal était sacrifié par saignée de un à huit jours après la dernière injection déchainante. Après ligature de la trachée, la cage thoracique était ouverte et les poumons immergés en masse dans du formol à 15 p. 100 salé (la rétraction pulmonaire était ainsi évitée) ; recoupe au bout de vingt-quatre heures et complément de la fixation soit dans du formol salé, soit dans du bichromate-alcool (Morel-Dalous).

Les injections déchainantes ont été effectuées par diverses voies, de manière à pouvoir juger des différentes réactions anatomiques suivant le lieu des réinjections. C'est ainsi que les voies intraveineuse, sous-cutanée, intrapéritonéale et intratrachéales ont été utilisées.

La dose moyenne de sérum inoculé à chaque injection déchainante a été de 5 cent. cubes, sauf pour 2 lapins traités par voie veineuse chez lesquels la dose a été de 1 cent. cube seulement à chaque reprise.

I. Lésions observées à la suite d'injections déchainantes intratrachéales répétées.

L'introduction endotrachéale de l'antigène réalise, au niveau du poumon, un véritable phénomène local d'anaphylaxie analogue à celui décrit pour la peau par Arthus.

Dans cet ordre de faits, Friedberger, puis Busson ont observé seulement de l'emphysème sans grande réaction inflammatoire. Schlecht et Schwencker ont obtenu chez le

cobaye sensibilisé, des phénomènes congestifs accompagnés d'éosinophilie. Opie, par des injections directement intrapulmonaires à travers la paroi thoracique, a déterminé un phénomène d'Arthus typique avec nécrose centrale entourée d'œdème et d'une infiltration leucocytaire. Fried a obtenu par réinjection intratrachéale d'antigène chez le lapin, des lésions comparables, d'après lui, à celles de la pneumonie humaine. La lésion évolue comme tout phénomène d'Arthus : œdème, exsudation abondante de granulocytes dès la troisième heure, prolifération des cellules alvéolaires, réactions vasculaires importantes, etc... Au quatrième jour, Fried a observé parfois une véritable lésion lobaire avec infiltrat à mononucléaires, vascularite intense, thrombose et infarctus. Après le quatrième jour les lésions diminuent d'intensité.

Comparant les lésions observées chez l'animal sensibilisé et chez l'animal non sensibilisé, Fried conclut que les lésions observées sont de même ordre mais que la réaction est plus violente, plus étendue, plus précoce et en même temps d'évolution plus prolongée chez l'animal sensibilisé antérieurement. Bisceglie a confirmé les conclusions de Fried ainsi que Carlinfanti et Scalfi.

EXPÉRIENCES PERSONNELLES.

Nous avons repris ces expériences, mais *en répétant autant que possible les injections intratrachéales* pour voir si la répétition des injections est susceptible de modifier les lésions constatées.

Les injections intratrachéales ont été pratiquées, dans tous les cas, par piqûre de la trachée immédiatement au-dessous du larynx et non par voie nasale comme l'a effectué Carlinfanti.

LAPIN 26. — Lapin adulte de 3 kilogrammes. Sérum de cheval antidiphthérique. 4 injections préparantes de 5 cent. cubes chacune en douze jours. Dix jours plus tard, 4 injections intraveineuses de 1/4 de centimètre cube à douze jours d'intervalle environ. Du huitième jour après la dernière au cinquantième jour, 4 injections intratrachéales de 3 cent. cubes. Saignée totale vingt-quatre heures après la dernière injection. Durée totale de l'expérience : quatre mois.

Cliniquement nous avons pu constater dans les deux poumons quelques râles sous-crépitaux assez gros après la dernière injection intratrachéale, avant la saignée.

Aspect macroscopique des poumons : à la surface des deux poumons se trouvent des placards congestifs ou hémorragiques larges de 1 à 2 centimètres en moyenne, grossièrement arrondis. Certains de ces placards sont uniquement superficiels, d'autres se prolongent vers le hile. A la coupe du poumon, d'ailleurs, il existe des zones arrondies, hémorragiques, en assez grand nombre. Quelques foyers d'atélectasie et d'emphysème.

Histologiquement les lésions sont complexes. Tout d'abord dans certaines régions, rares il est vrai, l'aspect pulmonaire est normal.

Dans les zones altérées, l'épithélium bronchique est intact, mais la lumière bronchique est parfois obstruée par une substance hyaline acidophile. Les faisceaux conjonctifs péribronchiques sont souvent le siège d'un léger gonflement et d'une infiltration leucocytaire. Il existe quelques nodules lymphoïdes péribronchiques constitués en totalité par des lymphocytes. Les artères sont en général d'un calibre normal, elles sont rarement le siège d'une thrombose hyaline fibrinoïde, la média est très rarement désorganisée par une infiltration leucocytaire abondante. Le tissu élastique est bien conservé.

Les veines présentent des altérations beaucoup plus graves, presque toutes sont le siège d'une thrombose hyaline fibrinoïde complète ou incomplète. Leurs parois sont assez fréquemment le siège d'une désorganisation à peu près totale, leurs vestiges sont envahis par de nombreux granulocytes et monocytes.

Les parois alvéolaires sont profondément remaniées, les capillaires sont méconnaissables. Le fort épaissement des septa est dû surtout à une abondante infiltration de globules blancs. Parmi ceux-ci, les leucocytes pseudo-éosinophiles prédominent, mais les histiocytes et les monocytes sont également extrêmement nombreux. Les mitoses sont fréquentes, les fibrocytes normaux rares. Le tissu élastique est complètement fragmenté.

Les cavités alvéolaires sont infiltrées de nombreux globules rouges et de macrophages contenant du pigment. Les polynucléaires prédominent cependant. Certaines cavités alvéolaires sont remplies d'une substance hyaline fibrinoïde analogue à celle que l'on retrouve dans quelques bronches, dans certaines artères et surtout dans les veines. Cette substance hyaline ne semble pas représenter les restes du sérum injecté puisqu'elle peut se retrouver aussi bien dans les bronches et dans les alvéoles que dans les vaisseaux ; elle semble être un produit fibrinoïde. Il ne s'agit pas de fibrine, car la réaction de Weigert est négative.

En résumé, le poumon de ce lapin présente, à la suite de 8 injections déchaînantes (4 intraveineuses de 1/4 de cent. cube et 4 intratrachéales de 3 cent. cubes chacune), l'animal ayant été sacrifié vingt-quatre heures après l'injection déchaînante, des lésions exsudatives et hémorragiques analogues à

celles que l'on rencontre dans tout phénomène d'Arthus. La réaction interstitielle particulièrement importante est due à la dernière réinjection et, d'autre part, aux séquelles des injections antérieures.

LAPIN 44. — 2 kilogr. 400. Après sensibilisation par voie sous-cutanée par 3 injections de 5 cent. cubes de sérum antidiphthérique en neuf jours, reçoit 10 injections déchaînantes intratrachéales en cinq mois. Saignée totale neuf jours après la dernière injection intratrachéale.

Durée totale de l'expérience : six mois environ.

Macroscopiquement, les poumons présentent quelques points hémorragiques dus probablement à la mort par saignée.

Histologiquement, les lésions constatées sont analogues à celles du

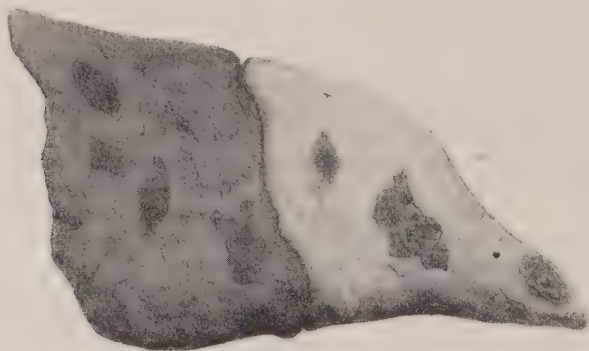


FIG. 1. — Lapin 47 : Lésion massive du lobe inférieur gauche ; lésions plus discrètes du lobe supérieur, succédant à 8 injections déchaînantes intratrachéales de 5 cent. cubes de sérum antidiphthérique de l'Institut Pasteur.

lapin 26. Mais la réaction interstitielle mésenchymateuse apparaît plus intense encore (histiocytes, lymphocytes, fibrocytes) et les cellules géantes sont fréquentes. L'importance de ces réactions est due au nombre élevé d'injections déchaînantes intratrachéales (10 au lieu de 4).

LAPIN 45. — 2 kilogr. 250. Sensibilisation identique à celle du lapin 44. Trois injections déchaînantes intratrachéales de 5 cent. cubes chacune en trois semaines. Mort en une minute de l'animal après la dernière injection déchaînante ; dyspnée intense avant la mort.

Macroscopiquement : poumons légèrement ouatés avec quelques zones emphysémateuses, congestion de la base droite. Sur la coupe sourd un exsudat rose pâle.

Histologiquement : emphysème diffus avec, à l'intérieur, de nombreux alvéoles, exsudat rosé par l'éosine ; congestion surtout au niveau des veines et des capillaires : ces lésions semblent être le témoin de la dernière injection qui a entraîné la mort. Mais il existe en plus des lésions interstitielles localisées à de nombreuses cloisons inter-

alvéolaires (réaction monocyto-histiocytaire, lymphocytes) ; elles représentent les vestiges des lésions provoquées par les injections déchainantes antérieures.

LAPIN 47. — 2 kilogr. 740. Sensibilisation par 3 injections sous-cutanées de 5 cent. cubes de sérum de cheval en neuf jours. Huit injections déchainantes intratrachéales de 5 cent. cubes chacune en quatorze semaines. Mort spontanée trois jours après la dernière injection

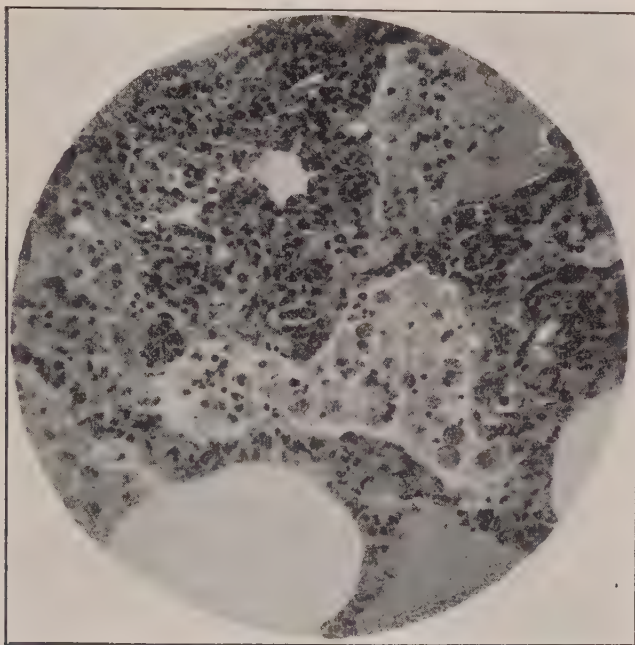


FIG. 2. — **Lapin 47** : Poumon. Lobe supérieur gauche.
Alvéolite œdémateuse et catarrhale.

déchainante intratrachéale. L'auscultation a fait percevoir des râles sous-crépitants au niveau des deux poumons et des râles crépitants à la base gauche.

Macroscopiquement, le lobe inférieur gauche est hépatisé, de coloration rouge, recouvert de fausses membranes, plus dense que l'eau. A la coupe, zone interne marron et zone externe rouge violacé. Le lobe supérieur présente des taches rouge violacé, annulaires ou polycycliques, se prolongeant vers le hile. Le poumon droit est hépatisé dans la zone médiastinale et paravertébrale. Adhérences interlobaires.

Exsudat pleural rosé de quelques centimètres cubes, bilatéral.

Histologiquement les lésions sont complexes.

Le foyer d'hépatisation lobaire est composé de plages de nécrose fibrinoïde incomplète, limitées par des fibrocytes plus ou moins altérés. Au voisinage immédiat de ces foyers on rencontre des lésions tout à fait différentes. Les cellules alvéolaires sont hautes, cubiques, limitant un alvéole rétréci libre ou occupé par une masse finement granuleuse, éosinophile, contenant parfois des plasmodies multinucléés. Hémorragies interalvéolaires fréquentes. Les réactions interstitielles sont intenses : infiltration de cellules rondes basophiles, de tailles diverses,

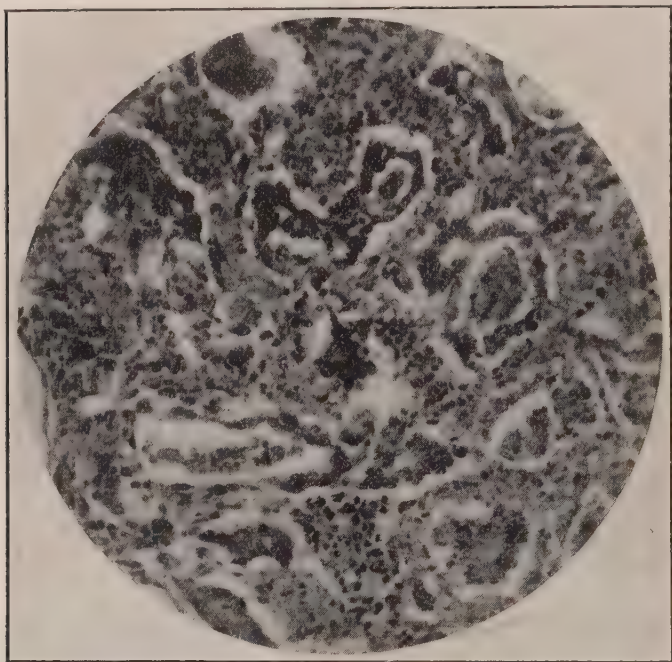


FIG. 3. — **Lapin 47** : Poumon. Lobe inférieur gauche. Métaplasie cubique de l'endothélium alvéolaire. Réaction interstitielle intense.

histiocytes, quelques fibroblastes, quelques rares polynucléaires pseudo-éosinophiles ; œdème interstitiel fibrinoïde ; tissu élastique méconnaissable. Les capillaires septaux sont gorgés de sang, parfois éclatés, leur endothélium prolifère nettement. Les artères, les artérioles, les veines sont le siège d'altérations profondes : réactions endothéliales, sous-endothéliales et adventitielles, gonflement fibrinoïde de la média, infiltration des parois vasculaires par des cellules mononucléées de divers types. Tous les vaisseaux sont gorgés de sang, aucun n'est thrombosé. Les bronches enfin présentent parfois une infiltration de leurs tuniques par des mononucléaires. Leur muqueuse est normale. Leur lumière est souvent occupée par des cellules à poussière alté-

rées, contenant des débris pigmentaires, englobées dans une substance finement granuleuse, éosinophile.

Les lésions du sommet gauche et celles du poumon droit sont constituées par une alvéolite catarrhale et hémorragique avec œdème fibrinoïde. Les réactions interstitielles et vasculaires sont particulièrement intenses, analogues à celles des lapins précédents. Le tissu élastique est particulièrement touché. L'examen bactériologique n'a permis de déceler aucun germe, ni à l'examen direct ni par culture.

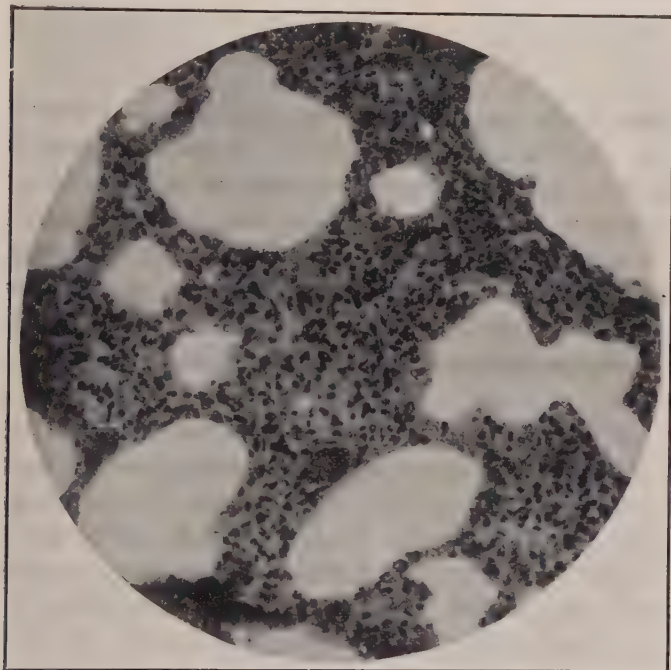


FIG. 4. — Lapin 44 : Poumon. Réaction interstitielle. Cellule géante.

En résumé, ce lapin ayant reçu 8 injections déchaînantes intratrachéales de 5 cent. cubes, est mort spontanément trois jours après la dernière injection des suites d'une lésion pulmonaire massive et étendue. Les lésions pulmonaires sont de trois ordres : nécrotiques, exsudatives et prolifératives. La nécrose fibrinoïde, analogue à celle que l'on retrouve dans tout phénomène d'Arthus intense, indique une sensibilité particulière de l'animal aux réinjections sériques. Les phénomènes prolifératifs représentent d'une part les lésions provo-

quées par la dernière injection et, d'autre part, les résidus des altérations provoquées par les injections intratrachéales antérieures. L'aspect de ces lésions interstitielles, la métaplasie cubique de l'épithélium pulmonaire et l'altération profonde du tissu élastique associés à des lésions vasculaires importantes permettent de penser à la possibilité d'une sclérose pulmonaire évolutive.

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES.

Structure du poumon du lapin normal. — Avant d'entamer toute description d'ensemble, il est indispensable de décrire l'image histologique normale du poumon du lapin, assez variable suivant les animaux, car un lapin, non traité, peut présenter des images pulmonaires, normales chez lui, qui pourraient induire en erreur. Lauche, dans le livre de Jaffé, Vaubel, puis Bisceglie ont traité cette question ; nous avons nous-même examiné les poumons de 3 lapins de contrôle.

Le premier point qui mérite d'être retenu est la présence de *nodules lymphoïdes péribronchiques* : ceux-ci sont uniquement constitués par des lymphocytes, ils ne renferment pas de centre germinatif. D'après Lauche et Vaubel, ainsi que Boissezon, ces groupes lymphoïdes se retrouveraient chez l'animal sain, alors que Pentimalli, au contraire, soutient que la présence des nodules parabronchiques ne peut être trouvée que chez des animaux traités par des injections d'albumine (quelle que soit la voie de l'injection). Bisceglie n'a pas retrouvé non plus d'amas lymphoïdes nodulaires, mais simplement quelques groupes de lymphocytes épars chez les animaux de contrôle. Nous n'avons nous-même rencontré, chez les animaux témoins, que quelques amas lymphoïdes sans nodules proprement dits ; par contre, nous avons constamment rencontré des nodules lymphoïdes parabronchiques dans les poumons des animaux en expérience, ne présentant pas de lésions pulmonaires trop graves. Quoi qu'il en soit, nous n'avons pas retenu la présence des nodules lymphoïdes comme signature d'un état pathologique, nous avons "

simplement noté leur existence à chaque examen histologique.

L'atélectasie partielle ainsi que l'*emphysème* peuvent être rencontrés dans le poumon normal du lapin prélevé et fixé sans précautions. Par la ligature préalable de la trachée avant l'extraction des organes thoraciques et fixation en masse, il est facile d'éviter ces lésions.

L'épaisseur des parois alvéolaires constitue le dernier point sur lequel les discussions sont ouvertes : il semble certain que la paroi alvéolaire peut être épaissie par suite d'une augmentation de volume légère de l'endothélium pulmonaire, mais en général cette lésion découle de l'atélectasie. De plus, la paroi alvéolaire peut être le siège, chez le lapin normal, d'une très légère infiltration lymphocytaire et leucocytaire.

De ce bref exposé, il ressort que l'on ne doit pas retenir comme pathologiques des altérations minimales, comme celles dont nous venons de parler, car elles peuvent exister dans le poumon de lapins absolument sains. Nous n'avons tenu compte, dans nos expériences, que des altérations suffisamment importantes pour ne pas prêter à confusion.

Avant d'examiner les résultats obtenus par des injections intratrachéales déchaînantes répétées, nous indiquerons, pour établir un point de comparaison, les modifications pulmonaires observées à la suite d'une seule injection sérique intratrachéale chez l'animal sensibilisé ou non.

A la suite d'une injection intratrachéale chez l'animal non sensibilisé, Fried ainsi que Bisceglie ont constaté une réaction fugace durant de quarante-huit à soixante-douze heures, caractérisée par de l'alvéolite catarrhale légère accompagnée d'œdème, de congestion avec afflux de granulocytes atteignant son maximum en vingt-quatre heures.

Ces mêmes auteurs, à la suite d'une seule injection déchaînante intratrachéale chez l'animal sensibilisé notent de la congestion, de l'œdème accompagnés d'un afflux granulocytaire précoce vers la dixième heure. Les leucocytes sont rapidement détruits et la réaction histocytaire devient prépondérante au bout de vingt-quatre heures. Dès cet instant, la réaction proliférative est intense ; elle s'accompagne d'importantes altérations vasculaires. Les cellules alvéolaires réagissent for-

tement et les septa sont épaissis par suite de la prolifération histiocytaire qui est très importante. Les vaisseaux sont profondément altérés, l'intima est bourgeonnante, l'adventice prolifère, la média est gonflée, épaissie. Au bout de quatre ou cinq jours, les lésions diminuent d'intensité et tous les phénomènes pathologiques disparaissent en huit à dix jours.

Au cours de nos expériences, nous avons constaté que la répétition des injections peut modifier l'aspect de la réaction anaphylactique.

Chez le lapin 43 qui est mort presque aussitôt après la 3^e injection intratrachéale, nous retiendrons surtout les *lésions interstitielles*, résidus évidents des réactions provoquées par les injections antérieures pratiquées quinze jours et un mois avant la mort de l'animal. Les lésions exsudatives minimales (oedème, congestion vasculaire légère) représentent la réaction immédiate succédant à la réinjection intratrachéale ; elle nous intéresse peu actuellement. Mais les altérations interstitielles, quoique parcellaires, sont nettement pathologiques : la présence d'histiocytes, de cellules rondes basophiles et de fibrocytes indiquent une lésion en voie d'extinction, mais il semble difficile d'admettre que cette réaction ne laisse pas, après son passage, des signes légers de sclérose interstitielle.

Le lapin 26 qui avait reçu 4 injections déchaînantes intraveineuses et 4 intratrachéales, et qui fut sacrifié vingt-quatre heures après la dernière injection déchaînante, présente des lésions interstitielles beaucoup plus importantes que celles qui ont été décrites à la suite d'une seule injection déchaînante intratrachéale.

Chez le lapin 44 qui avait subi 10 injections déchaînantes intratrachéales et qui fut sacrifié neuf jours après la dernière injection, les réactions interstitielles sont intenses alors qu'à la suite d'une seule injection elles auraient entièrement disparu. On a trouvé des cellules géantes dans le tissu septal. Les éléments conjonctifs formant la majeure partie de la réaction interstitielle sont des éléments actifs, le Van Gieson ou le Masson ne permettent pas de constater une augmentation notable du tissu collagène. Cela n'a rien d'étonnant car la durée de l'expérience n'est pas encore assez longue et les

injections successives n'ont pas laissé le temps nécessaire pour l'organisation d'un tissu cicatriciel.

La métaplasie cubique des cellules alvéolaires constatée dans le poumon du lapin 47 complète encore la ressemblance des lésions avec celles que l'on peut retrouver dans certaines scléroses pulmonaires. Le lapin 47 présentait une sensibilité extrême aux réinjections sériques qu'attestaient, d'une part l'œdème très important accompagné de taches ecchymotiques au niveau du phénomène d'Arthus de l'oreille et, d'autre part, les lésions pulmonaires accentuées avec altérations massives de tout le lobe inférieur gauche ayant entraîné la mort. Cette lésion massive traduit un processus aigu hyperergique, mais elle n'a aucun point commun avec le substratum anatomo-pathologique de la pneumonie franche aiguë de l'homme. Dans celle-ci, en effet, la lésion exsudative intense réalise une infiltration alvéolaire fibrino-leucocytaire.

Chez le lapin 47, les alvéoles sont fréquemment remplis par des macrophages, un œdème fibrinoïde en certains points, mais les leucocytes sont rares à ce stade et on ne constate nulle part la présence de fibrine. Ce qui domine le tableau anatomo-pathologique, c'est la réaction interstitielle intense associant l'œdème fibrinoïde, la multiplication des cellules conjonctives fixes et une congestion violente. Le tissu élastique est fragmenté, méconnaissable.

L'état des vaisseaux est tout à fait spécial, car les artères et les veines peuvent être le siège de modifications portant sur leurs trois tuniques : endothélite et multiplication avec gonflement des éléments sous-endothéliaux, gonflement ou dégénérescence de la média, œdème adventitial avec prolifération cellulaire entraînant parfois de véritables manchons périvasculaires composés de cellules lymphocytoïdes de tailles variées et d'histiocytes. Leur tissu élastique est en général mieux conservé. Ces diverses modifications permettent de supposer que, si l'animal avait survécu, la possibilité d'une sclérose résiduelle ne doit pas être exclue.

Nous insisterons, pour terminer, sur deux points qui sont dignes de remarque : l'absence de réaction fibrineuse vraie et l'intégrité de la muqueuse bronchique.

Nous n'avons pu, à aucun moment, déceler la présence de filaments de fibrine au niveau des réactions provoquées par le traitement expérimental. Il est probable cependant que la fibrine doit pouvoir être découverte dans d'autres conditions expérimentales puisque Fried a constaté une exsudation fibrineuse abondante à la suite d'une seule injection déchaînante intratrachéale chez l'animal sensibilisé. La répétition des injections a donc modifié aussi l'image histologique sur ce point : la fibrine est complètement absente au cours des réinjections multiples.

L'état des bronches est le dernier point que nous allons envisager, car il est curieux de constater l'intégrité quasi constante de leur muqueuse. Les altérations de la muqueuse bronchique sont en effet toujours secondaires à une infiltration leucocytaire ou monocytaire provenant soit du tissu cellulaire juxtabronchique, soit des éléments interstitiels voisins ; la muqueuse peut être ainsi, exceptionnellement d'ailleurs, envahie et même détruite. Les autres éléments constitutifs de la bronche sont lésés d'une manière plus intense. Dans les réactions fortes, le muscle, le cartilage, le tissu élastique et, bien entendu, l'adventice bronchique sont plus ou moins profondément altérés. Dans les réactions plus faibles au contraire, seuls les éléments conjonctifs péri-bronchiques réagissent comme les autres parties du tissu mésenchymateux par la formation d'éléments monocyto-histiocytaires.

Les nodules lymphoïdes péribronchiques présentent, eux aussi, des signes évidents d'activité et leurs cellules constitutives se modifient et donnent naissance à de grands éléments mononucléés comparables en tous points à des monocytes. Nous ne pouvons cependant affirmer ce phénomène avec certitude, car nous n'avons pas mis en évidence de termes de passage absolument convaincants.

En résumé, l'étude des phénomènes locaux d'anaphylaxie pulmonaire par réinjections répétées endotrachéales d'antigène montre que l'image histopathologique est nettement modifiée par la répétition même des injections déchaînantes. La durée de la réaction pathologique est fortement prolongée :

nous ne pouvons préciser la durée exacte de la réaction, mais elle est d'au moins quinze jours d'après nos expériences ; les lésions anaphylactiques considérées comme fugaces par la plupart des auteurs sont au contraire persistantes lorsque les injections déchaînantes sont suffisamment répétées. Ce phénomène est particulièrement net au niveau du poumon où l'on arrive à obtenir, chez des animaux spécialement sensibles, des réactions intenses à prédominance interstitielle, mais n'épargnant aucun élément constitutif du poumon et rappelant même des lésions de sclérose pulmonaire active.

II. Lésions observées à la suite d'injections déchaînantes répétées par voies intraveineuse, sous-cutanée et intrapéritonéale.

Les réactions pulmonaires expérimentales qui vont être envisagées n'ont pas du tout la même signification que celles que nous venons d'étudier. Elles représentent, en effet, non la réponse locale à des réinjections *in situ* de l'antigène, mais les réactions à distance provoquées au niveau du poumon par des injections déchaînantes en divers points de l'organisme. Ces modifications pulmonaires ne sont qu'une partie des réactions plus générales que nous avons étudiées dans notre thèse.

A. — ALTÉRATIONS PULMONAIRES A LA SUITE D'INJECTIONS DÉCHAÎNANTES INTRAVEINEUSES.

Les travaux de Auer et Lewis, Biedl et Kraus, Coca, Knepper et Waaler ont mis en évidence la contraction bronchique, le spasme artériel et la thrombose hyaline des vaisseaux pulmonaires à la suite d'un choc anaphylactique aigu. Ces lésions, pour intéressantes qu'elles soient, ne sauraient retenir longtemps notre attention car l'image histopathologique n'a pas eu le temps de se développer ; ce sont des réactions brutales, fonctionnelles, traduisant un déséquilibre neuro-humoral.

Lumière établit, en 1924, une distinction entre les lésions

constatées à la suite d'un choc mortel en quelques minutes et celles qui succèdent à un choc n'ayant entraîné l'issue fatale qu'au bout de plusieurs heures. Dans le premier cas, les lésions sont uniquement congestives, dans le second, au contraire, il existe une hépatisation et une atélectasie prononcées. Croizat confirme en 1927 les affirmations de Lumière et différencie, de plus, deux zones distinctes : une zone externe sous-pleurale avec énorme congestion capillaire et alvéolite desquamative, et une zone interne, voisine des pédicules bronchovasculaires, dans laquelle les lésions septales du type granulomateux prédominent : l'infiltration cellulaire est composée d'histiocytes, de macrophages, de lymphocytes, de polynucléaires rarement éosinophiles, enfin de cellules à type conjonctif parfois en mitose ou possédant un noyau géant. De plus, les sinusoides capillaires sont gorgés de sang et les hémorragies interstitielles y sont fréquentes.

Vaubel, en 1932, note chez les animaux traités par des injections de doses assez grandes d'albumine répétées à des intervalles de cinq à huit jours, une dilatation vasculaire avec épaississement des septa. Il n'a pu, dans aucun cas, constater de réactions lymphoïdes anormales. Carlinfant et Scalfi ont récemment retrouvé des lésions analogues à celles décrites par Croizat et par Vaubel, en outre ils auraient constaté des infarctus véritables dus à la thrombose artérielle.

EXPÉRIENCES PERSONNELLES. — Nous avons examiné les poumons de 6 lapins ayant subi des chocs anaphylactiques par voie veineuse. L'un d'eux (lapin 42) est mort trois minutes après la première injection déchaînante. Les 5 autres ont subi 9 à 10 injections déchaînantes intraveineuses, soit de 5 cent. cubes de sérum antidiphthérique (lapins 38, 41 et 46), soit de 1 cent. cube (lapins 31 et 32). Ces 5 animaux ont été sacrifiés par saignée de un à huit jours après la dernière injection.

LAPIN 42. — 2 kilogr. 300. Après sensibilisation par 3 injections sous-cutanées de 5 cent. cubes de sérum du 19 au 28 août, ce lapin reçoit, le 14 septembre, 5 cent. cubes de sérum par voie intraveineuse et meurt en trois minutes. A l'examen histologique on constate une constriction nette des artères et des bronches.

LAPIN 38. — 1.900 grammes au début de l'expérience, 2 kilogr. 200 à la fin. Reçoit 3 injections préparantes sous-cutanées de 5 cent. cubes de sérum antidiphthérique du 20 juin au 5 juillet. Le 14 août, injection déchaînante intraveineuse de 5 cent. cubes ; shock extrêmement grave dont l'animal se relève cependant. Du 14 août 1936 au 15 janvier 1937, l'animal reçoit 10 injections intraveineuses de 5 cent. cubes de sérum antidiphthérique à quinze jours d'intervalle environ. Chaque injection a été suivie d'un shock grave. Sacrifié par saignée le 23 janvier 1937, soit huit jours après la dernière injection déchaînante. Durée totale de l'expérience : sept mois.

A l'autopsie, après ligature de la trachée, le poumon droit présente une tache hémorragique superficielle de 2 millimètres de diamètre. Cette hémorragie est sûrement due au mode de sacrifice. Le poumon présente, en dehors de cette lésion, un aspect absolument normal.

Au point de vue histologique, les vaisseaux tout d'abord apparaissent fortement lésés. Les artères, de calibre sensiblement normal, sont parfois à moitié envahies par une thrombose hyaline fibrinoïde. Leur paroi est souvent désorganisée ; des fibrocytes, de grands mononucléaires l'envahissent ; l'endothélium bourgeonne, l'adventice est formé d'éléments conjonctifs jeunes. Les capillaires septaux sont congestionnés, bourrés de globules rouges, l'endothélium est en forte réaction. Les veines enfin présentent des altérations encore plus accentuées ; leur thrombose complète ou incomplète est très fréquente ; les cellules endothéliales bourgeonnent, la média est envahie par des éléments conjonctifs jeunes ainsi que l'adventice. Il est fréquent de rencontrer autour des pédicules broncho-vasculaires et quelle que soit la zone examinée (centrale ou périphérique), des formations nodulaires composées de globules rouges plus ou moins altérés et des éléments uniquement mononucléés dans lesquels on reconnaît des fibroblastes, quelques histiocytes et de grandes cellules à protoplasma basophile dérivant probablement des éléments conjonctifs fixes ; les lymphocytes sont rares. Les septa sont fortement épaissis ; cet épaississement provient non seulement de la congestion des capillaires, mais encore de la présence de nombreux fibrocytes et histiocytes septaux. L'endothélium des capillaires prend part aussi à l'hyperplasie. Le tissu élastique est très difficile à mettre en évidence, il est profondément altéré. Les cellules de l'endothélium pulmonaire sont augmentées de volume, leur épaisseur est nettement supérieure à la normale. Les cavités alvéolaires sont entièrement libres.

Les bronches sont normales dans l'ensemble ; il n'existe aucun follicule lymphoïde péribronchique, mais on retrouve fréquemment les nodules décrits plus haut composés de grandes cellules mononucléées.

En résumé, ce lapin, en expérience pendant sept mois, a reçu, après sensibilisation sous-cutanée, 10 injections déchaînantes intraveineuses de 5 cent. cubes avec un choc constant à chaque injection déchaînante. Les lésions pulmonaires sont très importantes. Elles sont interstitielles avec participation de tous les éléments conjonctifs et mésenchymateux. Il existe,

en particulier, une panvascularite intense, surtout marquée au niveau des veines. Le tissu élastique est profondément altéré. L'animal ayant été sacrifié huit jours après la dernière injection déchaînante, nous admettons que ces lésions persistent beaucoup plus longtemps qu'après une seule injection déchaînante et qu'elles représentent la somme des altérations provoquées par les injections déchaînantes intraveineuses successives.

LAPIN 41. — Ce lapin a reçu le même traitement que le précédent ; il a présenté des réactions analogues.

Les lésions pulmonaires sont à peu près identiques ; les artères sont cependant moins lésées. De plus, ce lapin a été sacrifié deux jours seulement après la dixième injection déchaînante ; on retrouve une légère infiltration alvéolaire composée de globules rouges et de macrophages ainsi qu'un œdème fibrinoïde des septa qui n'existait pas chez le lapin précédent (38), sacrifié huit jours après la dernière injection intraveineuse.

LAPIN 46. — Ce lapin a subi un traitement expérimental analogue à celui appliqué aux lapins 38 et 41. Les lésions vasculaires sont comparables à celles déjà décrites pour ces deux lapins, par contre, les lésions interstitielles des cloisons alvéolaires sont nulles.

LAPIN 31 et LAPIN 32. — Après sensibilisation par 4 injections sous-cutanées de 5 cent. cubes de sérum antidiphthérique, les animaux ont reçu 10 injections intraveineuses déchaînantes de 1 cent. cube (au lieu de 5 cent. cubes pour les lapins 38, 41 et 46) du 18 novembre 1935 au 5 mai 1936. Sacrifiés par saignée le 6 mai 1936.

Les lésions pulmonaires constatées à l'examen histologique sont analogues à celles décrites pour les lapins 38 et 41.

B. — ÉTAT DU POUMON

A LA SUITE D'INJECTIONS DÉCHAÎNANTES RÉPÉTÉES PAR VOIE INTRAPÉRITONÉALE.

LAPIN 48 et LAPIN 49. — Sensibilisation par 3 injections sous-cutanées de 5 cent. cubes de sérum de cheval du 20 août 1936 au 2 septembre 1936. 7 injections déchaînantes intrapéritonéales de 5 cent. cubes chacune du 12 septembre au 18 décembre 1936. Sacrifiés par saignée le 20 décembre 1936. Choc intense à chaque injection déchaînante.

L'examen histologique montre l'intégrité du poumon.

LAPIN 50. — Sensibilisation identique à celle des lapins 48 et 49.

Cinq injections déchaînantes intrapéritonéales de 5 cent. cubes du 25 septembre au 5 décembre 1936. Sacrifié par saignée le 9 décembre 1936. Choc variable à la suite de chaque injection déchaînante, tantôt marqué, tantôt cliniquement nul.

Lésions histologiques minimales : thrombose hyaline des veinules et de certains capillaires ; légère infiltration à mononucléaires des cloisons interalvéolaires. Ces lésions sont trop minimales pour qu'on puisse en affirmer la nature pathologique.

En somme, les 3 lapins traités par des injections intrapéritonéales répétées n'ont pas présenté de lésions pulmonaires nettes.

C. — LÉSIONS PULMONAIRES

A LA SUITE D'INJECTIONS DÉCHAÎNANTES RÉPÉTÉES PAR LA VOIE SOUS-CUTANÉE.

LAPIN 29. — Reçoit de juin 1936 à janvier 1937, 3 injections préparantes sous-cutanées de 5 cent. cubes de sérum antidiphtérique et 10 injections de 3 à 5 cent. cubes sous-cutanées à quinze jours d'intervalle. Chaque injection a été pratiquée en des points différents.

Les lésions constatées à l'examen histologique sont analogues à celles décrites pour le lapin 38 traité par la voie intraveineuse. Nous n'y reviendrons pas.

LAPINS 36 et 37. — Ces deux lapins ont reçu un traitement expérimental analogue à celui subi par le lapin 29. Les poumons sont normaux à l'examen histologique.

Considérations générales.

L'étude anatomo-pathologique du poumon chez le lapin soumis à des injections déchaînantes répétées montre que cet organe réagit par des lésions d'une importance plus ou moins grande suivant le lieu des injections déchaînantes : la voie intraveineuse est celle qui s'accompagne le plus constamment de grosses altérations pulmonaires puisque 3 lapins sur 6 présentent de graves lésions. La voie péritonéale, par contre, ne convient pas, car sur les 3 lapins traités de cette manière, aucun ne présente de lésions nettes. La voie sous-cutanée enfin a permis d'obtenir une fois sur trois des lésions importantes.

Les études déjà publiées sur les lésions pulmonaires succédant à une seule injection déchaînante intraveineuse avaient montré l'existence de phénomènes exsudatifs puis prolifératifs avec vascularite. Mais ces altérations disparaissaient rapi-

dement et tout rentrait dans l'ordre en quelques jours.

La répétition des injections déchaînantes entraîne des altérations beaucoup plus persistantes : sur un fond constitué avant tout par la réaction interstitielle viendront se greffer les phénomènes exsudatifs et prolifératifs qui succèdent à chaque injection déchaînante. C'est ainsi que les lapins 41, 31 et 32 sacrifiés un ou deux jours après la dernière injection déchaînante intraveineuse présentaient des phénomènes exsudatifs et prolifératifs. Chez le lapin 29 sacrifié trois jours après la dernière injection déchaînante sous-cutanée et chez le lapin 38, sacrifié huit jours après la dernière injection déchaînante intraveineuse, il n'existe plus que des phénomènes prolifératifs. Le fait que huit jours après une injection de grosses altérations persistent, montre bien que les injections déchaînantes répétées entraînent des lésions pulmonaires durables qui vont être maintenant schématisées.

Les *septa* sont très fortement épaissis du fait de divers facteurs : les capillaires sont rarement congestionnés, mais leur endothélium peut être en légère hyperplasie. Le nombre des cellules conjonctives en activité est très grand : monocytes, histiocytes et fibrocytes en abondance variable associés à un nombre plus ou moins grand de lymphocytes ; ce sont ces éléments qui contribuent le plus à l'épaississement des cloisons inter-alvéolaires. Le collagène adulte cependant ne semble pas augmenté. Ceci ne saurait surprendre, car les lapins avaient été soumis à des chocs successifs trop rapprochés pour permettre l'organisation d'un tissu conjonctif adulte. La présence de polynucléaires est exceptionnelle.

L'*endothélium pulmonaire* est souvent épaissi, mais nous n'avons pas rencontré de métaplasie cubique analogue à celle décrite chez le lapin 47 traité par des injections déchaînantes répétées intratrachéales. Les cavités alvéolaires sont libres de tout exsudat.

Les *vaisseaux* peuvent rester profondément altérés et les artères en particulier présentent parfois un épaississement net englobant l'intima et la média : dans cette zone, la coloration de Masson ou de Van Gieson fait parfois découvrir des fibrilles conjonctives adultes ; ce fait est rare cependant.

L'adventice réagit toujours, mais ces réactions sont d'intensité et de durée variables.

La thrombose hyaline des veinules se rencontre constamment, mais il ne faut pas oublier que la mort par saignée de l'animal peut entraîner cette lésion ; aussi est-il difficile d'en faire une altération nettement pathologique.

L'épithélium bronchique ne réagit pas, mais il peut être parfois envahi par des éléments monocyto-histiocytaires ; les nodules lymphoïdes péribronchiques présentent des signes d'activité.

Telles sont les lésions durables que l'on peut obtenir par des injections déchaînantes répétées par les voies intraveineuse, sous-cutanée et intrapéritonéale.

Leur interprétation est délicate mais semble pouvoir être trouvée dans le fait que l'antigène arrive dans les capillaires pulmonaires en quantité plus ou moins grande suivant la voie même des injections déchaînantes. Il est intéressant de remarquer, en effet, que les lésions pulmonaires observées sont importantes et fréquentes lors des réinjections intraveineuses (5 réactions importantes sur 6 lapins), alors qu'elles sont rares et peu intenses lors des réinoculations sous-cutanées de l'antigène (une réaction moyenne seulement sur 3 lapins), et pratiquement nulles lors de réinoculations intrapéritonéales (un cas douteux de réaction pathologique sur 3 lapins). Lors des injections intraveineuses, l'antigène arrive d'emblée et intact au niveau des capillaires pulmonaires ; ce fait peut expliquer la fréquence de l'intensité des réactions anatomiques constatées. Par des injections sous-cutanées, au contraire, l'antigène est plus ou moins localisé au lieu de l'injection par le phénomène d'Arthus ; cependant, chez certains animaux, le phénomène de localisation peut être imparfait et l'antigène est susceptible de pénétrer dans l'organisme soit par voie lymphatique, soit par voie veineuse pour arriver au niveau du poumon où son passage entraînera des réactions. De fait, le lapin 29 qui a présenté des réactions pulmonaires n'a réagi aux réinjections sous-cutanées répétées que par des phénomènes d'Arthus peu accentués aboutissant très rarement à la formation d'une escarre avec élimination.

Le lapin 36 et le lapin 37, traités de la même façon, ont réagi plus violemment et le lapin 37, en particulier, a présenté une escarre à chaque injection sous-cutanée ; le poumon n'a pas réagi chez ces deux lapins ; l'antigène, en effet, n'est pas entré dans la circulation veineuse (ou dans des proportions très minimes) du fait de l'intensité du phénomène d'Arthus ; il n'a donc pas entraîné de réaction pulmonaire.

Il en est de même pour les lapins traités par la voie péritonéale : aucun de ceux-ci n'a présenté de lésion pulmonaire car l'antigène était neutralisé par l'énorme masse mésenchymateuse constituée par le péritoine et l'épiploon.

Nous croyons donc logique d'interpréter les réactions pulmonaires comme étant dues à une action locale de l'antigène qui parvient au poumon par voie veineuse en quantité plus ou moins grande. Nous rapprocherons donc volontiers les lésions pulmonaires provoquées par la voie intratrachéale (donc avec apport de l'antigène *in situ*) de celles provoquées par les autres voies de réinoculations étudiées. Leurs images anatomiques sont d'ailleurs superposables ; seule l'intensité des réactions diffère. Dans tous les cas, les lésions évoluent en deux stades : exsudatif d'abord, prolifératif ensuite. Ce dernier stade est fugace lorsque l'injection déchaînante est unique ; au contraire, par la répétition des injections déchaînantes, il est possible d'obtenir des lésions beaucoup plus durables.

En dehors de cette interprétation (réaction locale d'arrêt et de neutralisation de l'antigène injecté), les réactions pulmonaires peuvent avoir une signification beaucoup plus générale ; elles ne sont en effet qu'une partie des réactions qui intéressent tout le tissu mésenchymateux de l'organisme, comme nous avons pu le mettre en évidence dans notre thèse. Ces réactions pourraient alors être interprétées, ainsi que dans les états d'immunisation, comme étant le témoin ou la cause de la formation de substances jouant un rôle important dans les modifications humorales (formation d'anticorps en particulier) de l'organisme, sous l'influence d'antigènes divers.

Les études de nombreux auteurs, en particulier celles de Kuczinski, de Siegmund, de Domagk et d'Epstein dans

diverses infections microbiennes ont montré le rôle important du tissu mésenchymateux dans la lutte contre ces infections.

De Boissezon, dans son étude sur l'immunisation du lapin contre les globules rouges de mouton, a mis en évidence l'importance des réactions du système réticulo-endothélial, en particulier au niveau du poumon. Il existe, entre les résultats qu'il a obtenus et les nôtres, des différences de détail explicables par le fait que l'antigène employé était différent. De Boissezon conclut cependant, de son étude, que le poumon joue un rôle dans la sécrétion des anticorps. Il en est de même pour Pentimalli qui a étudié les réactions de divers organes (en particulier du poumon) au cours d'intoxications chroniques par diverses protéines. Les réactions qu'il a constatées sont identiques à celles que nous avons pu mettre nous-même en évidence à la suite de chocs anaphylactiques répétés.

Les lésions que nous avons décrites ne sont donc pas spécifiques de l'anaphylaxie ; elles semblent représenter un phénomène beaucoup plus général qui s'observe dans tout organisme modifié par l'introduction d'un antigène quelconque.

Les lésions pulmonaires constatées chez les lapins en expérience n'ont pas de rapport avec la violence et l'intensité du choc anaphylactique. En effet, parmi les animaux traités par voie intraveineuse, les lapins 32, 38, 41 et 46 ont présenté à chaque injection déchaînante, un choc important : les lésions pulmonaires étaient intenses chez les lapins 38 et 41 et minimales ou nulles chez les lapins 46 et 32. Le lapin 31, au contraire, traité par la même voie, ainsi que le lapin 29 traité par la voie sous-cutanée, n'ont pas présenté de signes cliniques de choc, mais les lésions pulmonaires constatées étaient importantes. Inversement, les lapins 48, 49 et 50 traités par la voie intrapéritonéale et ayant présenté un choc plus ou moins grave à la suite de chaque injection déchaînante ne présentaient aucune lésion pulmonaire. L'intensité du choc et le degré des lésions pulmonaires n'ont donc aucun rapport.

Conclusions.

L'étude des réactions pulmonaires chez le lapin dans l'anaphylaxie expérimentale provoquée par des injections

déchainantes répétées jusqu'à dix reprises, ces injections déchainantes ayant été faites par diverses voies (endotra-chéale, intraveineuse, sous-cutanée et intrapéritonéale), montre que le poumon réagit dans de nombreux cas par des lésions persistantes, alors qu'un seul choc anaphylactique ne provoque que des réactions fugaces.

Les lésions persistantes ainsi provoquées sont d'ordre mésenchymateux (vascularite, mobilisation des éléments fixes du tissu conjonctif) ; elles sont analogues à celles qui ont été décrites dans les états d'immunisation ou dans les états d'intoxication protéidique.

Elles semblent représenter d'une part, une réaction locale de neutralisation de l'antigène injecté et, d'autre part, des réactions témoins de la formation de substances telles que les anticorps.

Ces réactions anatomiques, quoique n'ayant aucune spécificité au point de vue étiologique, peuvent justifier le terme souvent employé d' « inflammation anaphylactique ».

BIBLIOGRAPHIE

- AUER et LEWIS. *Journ. Exp. Med.*, 1910.
 BIEDL et KRAUS. *Vortrag. d. freien Verein. f. Mikrob.*, 1909.
 BISCEGLIE (V.). *Riv. di Patol. Sperim.*, mars-avril 1934,
 BOISSEZON (P. de). *Journ. Phys. et Path. générales*, **33**, 1935.
 BUSSON. *Wiener klin. Woch.*, **24**, 1911.
 CARLINFANTI et SCALFI. *Boll. Ist. Sier. Milanese*, **15**, 1936.
 COCA. *Arch. f. Anat. und Path. Anat.*, 1909.
 GROIZAT (P.). *Thèse Médecine*, Lyon, 1927. *Journ. Médéc. de Lyon*, 1929.
 DOMAGK. *Virchow's Archiv.*, **253**, 1924.
 EPSTEIN. *Virchow's Archiv.*, **273**, 1929.
 FEUILLIÉ. *Revue de Médecine*, 1925. *C. R. Soc. de Biol.*, **49**, 1925.
 FRIED (J.). *Journ. Exp. Med.*, **57**, 1933.
 GARIPUY (A.). *Thèse Médecine*, Toulouse, 1937. E. Privat, éditeur.
 KNEPPER et WAALER. *Virchow's Archiv.*, **296**, 1935.
 KUCZINSKI. *Virchow's Archiv.*, **239**, 1922.
 LUMIÈRE. *Le problème de l'Anaphylaxie*. O. Doin, Paris, 1924.
 OPIE (E. L.). *J. Imm.*, **9**, 1924.
 PENTIMALLI. *Virchow's Archiv.*, **275**, 1930.
 SCHLECHT et SCHWENCKER. *Arch. für Exp. Path. und Pharm.*, **68**, 1912.
 SIEGMUND. *Verhandl. d. deutsch. pathol. Gesellschaft*, 1923.
 VAUBEL. *Beit. z. Pathol. Anat. und Allg. Pathol.*, **89**, 1932.

Le Gérant : G. MASSON.